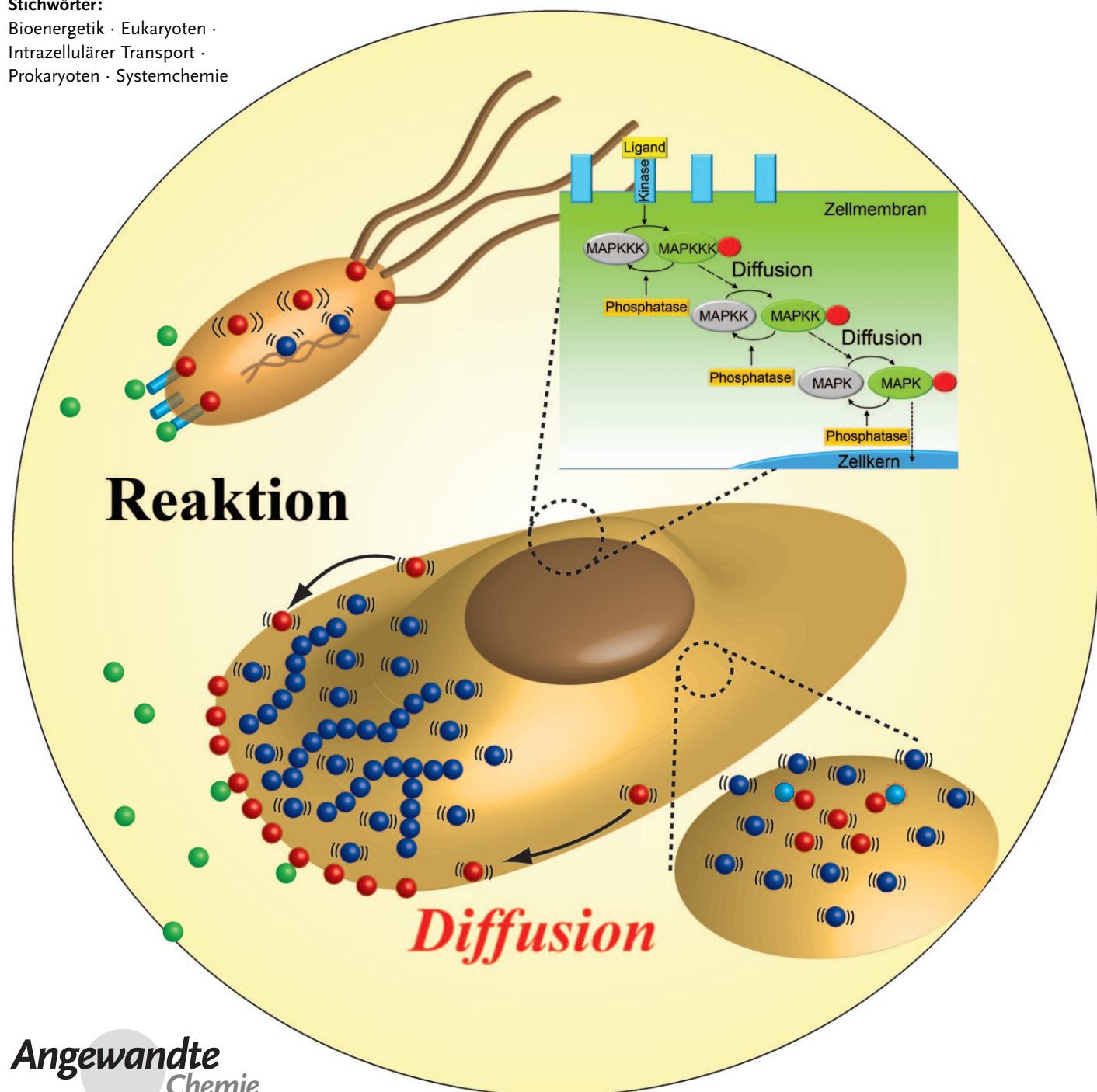


Reaktions-Diffusions-Systeme für intrazellulären Transport und Kontrolle

Siwling Soh, Marta Byrska, Kristiana Kandere-Grzybowska und Bartosz A. Grzybowski*

Stichwörter:

Bioenergetik · Eukaryoten ·
Intrazellulärer Transport ·
Prokaryoten · Systemchemie



Chemische Reaktionen können Zellen nur am Leben erhalten, wenn die beteiligten Verbindungen an den erforderlichen Stellen zeitlich präzise angeliefert werden. Die meisten Forschungen haben sich bislang auf aktive Transportmechanismen konzentriert, obwohl die passive Diffusion oft gleich schnell ist und weniger Energie erfordert. Um die Vorteile dieser Transportform zu nutzen, haben die Zellen ausgeklügelte Reaktions-Diffusions(RD)-Systeme entwickelt, die zahlreiche zelluläre Funktionen kontrollieren – von Chemotaxis und Zellteilung über Signalkaskaden und -oszillationen bis hin zur Zellbeweglichkeit. Diese nur scheinbar unterschiedlichen Systeme sind nach allgemeinen Prinzipien aufgebaut und haben viele Gemeinsamkeiten. Wiederkehrende Elemente sind nichtlineare Kinetik, Autokatalyse und Rückkopplungsschleifen. Um die Funktion dieser komplexen (bio)chemischen Systeme zu verstehen, muss man die Transportkinetik-Gleichungen analysieren oder die charakteristischen Zeiten der Teilprozesse zumindest qualitativ betrachten. Während wir Beispiele für zelluläre RD-Systeme vorstellen, versuchen wir daher auch, den Leser mit den theoretischen Grundlagen der RD-Phänomene vertraut zu machen.

1. Einleitung

Eine Zelle ist viel mehr als ein Sack gleichmäßig verteilter Moleküle, die miteinander reagieren. Vielmehr hängt ihre Funktion entscheidend von der einwandfreien Synchronisation biochemischer Reaktionen und der präzisen zeitlichen und räumlichen Bereitstellung der benötigten Verbindungen ab.^[1] Mit modernen Methoden zur intrazellulären Bildgebung mit fluoreszierenden Proteinfusionen (grün fluoreszierendes Protein, GFP, und dessen Derivate mit anderen spektralen Eigenschaften)^[2–7] und neu entwickelten Sensoren für molekulare Wechselwirkungen und Konformationsänderungen^[8] lassen sich einzelne (Bio)moleküle verfolgen, intrazelluläre Konzentrationsprofile wechselwirkender Proteine quantitativ bestimmen und verschiedene Varianten des intrazellulären Transports untersuchen. Der Großteil der entsprechenden Forschungen hat sich auf die raffinierteren „aktiven“ Transportmechanismen konzentriert (Tabelle 1) und dabei immer wieder den einfachsten zellulären Transport übersehen – nämlich die Diffusion – und seine Bedeutung für die Kontrolle intrazellulärer Vorgänge unterschätzt. In diesem Aufsatz gehen wir der Frage nach, ob und wann Diffusion biochemische intrazelluläre Reaktionen kontrolliert. Vor allem aber wollen wir analysieren, wie die Kopplung zwischen Diffusion und Reaktion komplexe intrazelluläre RD-Systeme zustandebringen kann, die zu Rückkopplung, Verstärkung, Oszillation, intrazellulärer Musterbildung, zum Aufbau supramolekularer Strukturen und zu Taxis fähig sind.

Aus drei Gründen richtet sich dieser Aufsatz weniger an Biologen oder Biophysiker, sondern vor allem an Chemiker und Biochemiker: Erstens waren Transport durch Diffusion und chemische Kinetik seit jeher Lehrgegenstand im Chemiestudium.^[9–11] Während einige mathematische Aspekte gekoppelter Reaktions-Diffusions-Phänomene nicht so ver-

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	4265
2. Grundlagen von Reaktions-Diffusions-Systemen	4267
3. RD bei Prokaryoten	4271
4. RD bei Eukaryoten	4275
5. Schlussfolgerungen und Ausblick	4289

traut sind, sind die grundlegenden Konzepte von Konzentrationsgradienten, Flüssen oder Reaktionsordnungen den Chemikern wohlbekannt, und die Ausweitung zur Beschreibung von RD-Prozessen erscheint relativ geradlinig. Zweitens – und das ist der wichtigste Grund – sind es vor allem die Chemiker, die heutzutage neue Verfahren erfinden, mit denen sich intrazellulärer Transport und Reaktionen sichtbar machen lassen. Der Nobelpreis 2008^[5–7] für die Entdeckung von GFP und verwandten Proteinen ist eine spektakuläre Errungenschaft zweier Chemiker (und natürlich des Biologen M. Chalfie). Es sind außerdem Chemiker, die intensiv an der Entwicklung neuer spektroskopischer Methoden (z. B. stochastische optische Rekonstruktionsmikroskopie^[12,13] (STORM), Fluoreszenzlösung durch stimulierte Emission (stimulated emission depletion, STED),^[14,15] photoaktivierte Lokalisationsmikroskopie (PALM; auch Lokalisationsmikroskopie nach Photoaktivierung),^[16] nichtlineare Mikroskopie mit strukturierter Beleuchtung (SIM, structured-illumination microscopy)^[17]) und Nanosonden (Goldnanostäbchen,^[18–20] „Nanokäfige“,^[21,22] Eisenoxid-Nanopartikel^[23–25] und Halbleiter-Quantenpunkte^[26–28]) für die intrazelluläre Bildgebung arbeiten. Die Untersuchung von RD in Zellen ist ein wichtiges Feld, in dem sich diese Methoden als hilfreich erweisen können. Und drittens können zukünftig vielleicht zelluläre RD-Systeme, in denen viele Reaktionen räumlich und zeitlich durch Diffusion abgestimmt werden, Anregungen für die

[*] S. Soh, M. Byrska, Prof. K. Kandere-Grzybowska
Department of Chemical and Biological Engineering
Northwestern University
2145 Sheridan Rd, Evanston, IL 60208 (USA)
Prof. B. A. Grzybowski
Department of Chemistry, Department of Chemical and Biological Engineering, Northwestern University
2145 Sheridan Rd, Evanston, IL 60208 (USA)
E-Mail: grzybor@northwestern.edu
Homepage: <http://www.dysa.northwestern.edu>

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200905513> zu finden.

Tabelle 1: Beispiele für aktiven, nichtdiffusiven intrazellulären Transport.

Transportweise	Umsetzungen und Funktion
Weitreichender Transport entlang von Mikrotubuli mithilfe von Motorproteinen	<p>1. Vesikulärer Transport 1.1. Bewegung von Endosomen/endo-cytischen Kompartimenten (Phagocytose, Pinocytose und rezeptorvermittelte Endozytose)^[75, 278, 279] Aufnahme und Bewegung von Makromolekülen (z. B. Zelloberflächenrezeptoren), anderen Zellen (Phagocytose), Flüssigkeiten und gelösten Substanzen (Pinocytose) aus der Umgebung, eingeschlossen in Vesikeln. 1.2. Exocytose^[75] Transport von Vesikeln mit neu synthetisierten Proteinen und Lipiden vom endoplasmatischen Reticulum zu den Trans-Golgi-Feldern und ihre Sekretion aus der Zelle.</p> <p>2. Bidirektonaler Transport (d. h. vom Zellinneren zur Peripherie und umgekehrt) von membranumschlossenen Organellen (z. B. Mitochondrien)^[280, 281] und Makromolekülen (z. B. Proteinen,^[81] mRNAs^[282]) durch die Kinesin- und Dynein-Motoren.^[283]</p>
Kurzreichender Transport entlang von Actin-filamenten mithilfe von Motorproteinen	Transport von Membranorganellen, ^[284–286] mRNAs ^[282] und Proteinen. ^[287]
Transportprotein-vermittelter aktiver Transport durch Membranen	<p>ATP-abhängiger Transport von</p> <p>1. Ionen (z. B. Na⁺-K⁺-Pumpen-vermittelter Transport von Natriumionen aus einer Zelle, gekoppelt mit dem Transport von Kaliumionen in die Zelle; sehr wichtig in Nerven- und Muskelzellen, um elektrische Signale zu erzeugen).^[75, 288] 2. spezifischen Molekülen entgegen einem Konzentrationsgradienten (z. B. Transport von Iod durch Schilddrüsenzellen).^[75, 288]</p>

Entwicklung „künstlicher“ chemischer Systeme geben. In diesem Zusammenhang kann sich das aufstrebende Feld der Systemchemie^[29–33] mit biomimetischen Ansätzen an Netzwerk-Modulen orientieren, in denen Reaktionen verknüpft werden, die so komplexe Funktionen wie Signalübertragung, Verstärkung oder sogar Selbstreplikation übernehmen.



Siewling Soh schloss sein Studium in chemischer Verfahrenstechnik an der National University of Singapore 2002 ab. Gegenwärtig arbeitet er als Doktorand bei Prof. Bartosz A. Grzybowski in den Departments of Chemistry and Chemical and Biological Engineering an der Northwestern University. In seinen wissenschaftlichen Arbeiten konzentriert er sich auf komplexe chemische Systeme mit Blick auf Reaktions-Diffusions- und Reaktionsnetzwerke.

In diesem Aufsatz werden wir RD in prokaryotischen und eukaryotischen Zellen vergleichen und die Unterschiede herausarbeiten. Da Prokaryoten einfache Organismen und typischerweise klein sind (ca. 1 µm Durchmesser^[34]), kann man auch bei langsamer Diffusion erwarten, dass die Moleküle innerhalb kurzer Zeit an der gewünschten Reaktionsstelle sind. In den größeren Eukaryoten (typischerweise ca. 10–30 µm Durchmesser^[34]) sollte die Diffusion als molekularer Transportmechanismus dagegen weniger wichtig sein; stattdessen erwartet man bei diesen Zellen, dass das Reaktionsnetzwerk durch aktiven Transport betrieben wird. Wie wir zeigen werden, sind diese intuitiven Vorhersagen zwar meistens, aber nicht immer richtig. Bei Prokaryoten werden die biochemischen Reaktionen überwiegend durch diffusiven Transport gekoppelt, um damit Prozesse wie chemotaktische Zellbewegung, Bestimmung der Zellmitte als Teilungsort und Bindung von Proteinen an spezifische Stellen der DNA zu steuern (Abbildung 1 a–c). Bei Eukaryoten (Abbildung 1 d,e) sind Reaktions-Diffusions(RD)-Prozesse nicht von so erheblicher Bedeutung, aber sie werden – alleine oder in Kombination mit anderen Mechanismen – doch zur Steuerung eines erstaunlich großen Teils der zellulären Maschinerie eingesetzt: Signalkaskaden, Organisation der Kernspindel, Frequenzeinstellung über chemische Wellen und Schlüsselemente des Cytoskeletts, die an der Zellbeweglichkeit beteiligt sind. Aus diesen und anderen Beispielen, die wir betrachtet haben, leiten sich einige überraschende Fragen ab: Warum sind passiver Transport und RD in Eukaryoten trotz ihrer scheinbaren Ineffizienz erhalten geblieben? In welchen Situationen ist es für die Zelle vorteilhaft, sich auf Diffusionsvorgänge zu verlassen?

Um diese Fragen zu beantworten, müssen wir zunächst ein Gefühl für RD-Prozesse entwickeln. Daher beginnen wir mit den Grundlagen der RD, formulieren Gleichungen, die die RD beschreiben, analysieren ihre Skalierungseigenschaften (charakteristische Zeiten, Abhängigkeiten von der Dimensionalität usw.) und fassen kurz die Energetik des Transports durch RD im Vergleich zu anderen Transportmechanismen zusammen. Danach werden wir RD in prokaryotischen Zellen diskutieren. Die Beispiele sind so ausgewählt, dass wir sie mit analogen Vorgängen bei Eukaryoten vergleichen können. Dabei wird sich herausstellen, dass RD, wenn auch nicht die schnellste Art, Makromoleküle zu be-



Marta Byrska erhielt ihren M.Sc. in Biologie 2007 an der Jagiellonen-Universität (Krakau, Polen) für Forschungsarbeiten, die sie an der University of Chicago im Department of Biochemistry and Molecular Biology durchführte. Gegenwärtig ist sie Doktorandin bei Prof. Bartosz A. Grzybowski an der Northwestern University. In ihren Arbeiten befasst sie sich mit der Zellmotilität auf molekulärer Ebene, insbesondere mit der Synchronisation von Actinfilamenten, Mikrotubuli und fokalen Adhäsionen während der Wanderung von Krebszellen.

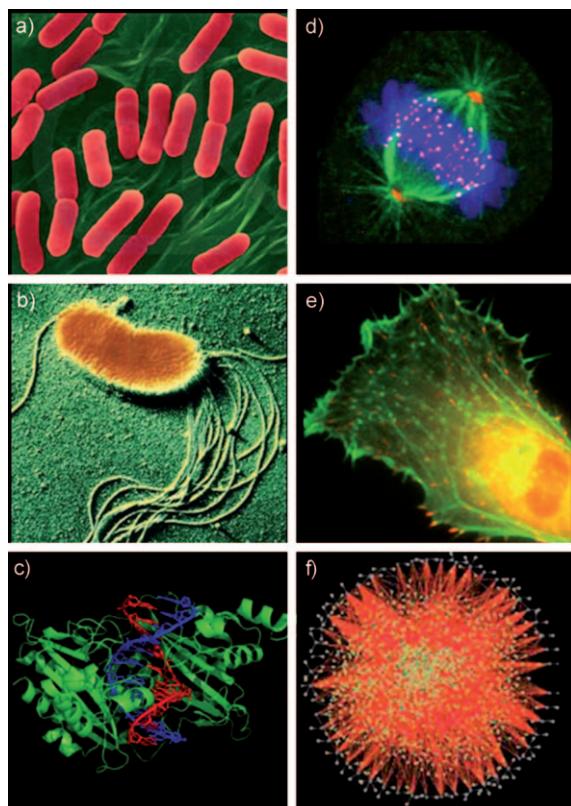


Abbildung 1. Beispiele für intrazelluläre Reaktions-Diffusions-Prozesse (RD) in Prokaryoten (a–c) und Eukaryoten (d–e). a) Festlegung der Zellmitte als Teilungsebene in *E. coli*; b) chemotaktisch gesteuerte Motilität von Bakterien; c) Aufsuchen spezifischer Stellen in der DNA durch Restriktionsenzyme; d) Selbstorganisation der Kernspindel; e) eukaryotische Zellmotilität; f) eukaryotische intrazelluläre Signalweiterleitung. [Bildnachweis: a) Copyright Dennis Kunkel Microscopy, Inc.; b) Copyright Photo Researchers, Inc. c) Abdruck mit freundlicher Genehmigung von RCSB und PDB aus Lit. [292], d) Abdruck mit freundlicher Genehmigung von Prof. Harold Fisk, Ohio State University, e) Abdruck mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [293], f) Abdruck mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [294]]

wegen, für die Zellen einen guten Kompromiss zwischen Geschwindigkeit und Energieaufwand darstellt. Wenn Geschwindigkeit nicht ausschlaggebend ist, kann es sich die Zelle erlauben, die Diffusion zu nutzen, die durch das stets



Kristiana Kandere-Grzybowska schloss ihr Biologiestudium 1998 am College of Saint Rose ab. Sie promovierte im September 2003 bei T. C. Theoharides in Biochemie an der Tufts University und war anschließend als Postdoktorandin mit Stipendium des Department of Defense an der Northwestern University tätig. Gegenwärtig ist sie Research Assistant Professor bei Prof. Grzybowski in den Departments of Chemistry und Chemical and Biological Engineering der Northwestern University. Ihr Interesse richtet sich auf intrazelluläre und Cytoskelett-Dynamik und Zellmotilität in begrenzten Räumen und bei Krebs.

vorhandene thermische Rauschen „kostenlos“ angetrieben wird und die Energiereserven der Zelle nicht angreift. Wenn andererseits Moleküle schnell oder spezifisch zu einer Reaktionsstelle gebracht werden müssen (wie bei einer polarisierten Sekretion oder dem Transport von Proteinen zu Adhäsionsstellen), „zahlt“ die Zelle einen energetischen Aufpreis (in ATP oder GTP als Währungseinheiten) für den aktiven Transport. Diese Situation ist vergleichbar mit dem Unterschied zwischen einem normalen Brief und einer Eilzustellung, nur auf zellulärer Ebene.

Eine andere Verallgemeinerung werden wir bei unserer Reise durch die zelluläre RD versuchen, nämlich, dass die „Architektur“ von RD-Systemen in verschiedenen Zelltypen und Funktionen konserviert ist. Aus der Tatsache, dass die gleichen Motive immer wieder auftauchen, lässt sich schließen, dass diese in der Biologie auf bestimmte erwünschte Funktionen hin optimiert worden sind. Diese optimalen Motive können daher als Blaupausen für künstliche RD-Systeme dienen, die zumindest einige biologische Funktionen nachahmen. Bevor aus dieser Vision jedoch Wirklichkeit werden kann, müssen wir die Prinzipien verstehen, auf denen RD-Systeme beruhen.

2. Grundlagen von Reaktions-Diffusions-Systemen

Reaktions-Diffusions-Prozesse werden seit über einem Jahrhundert in künstlichen und natürlichen Systemen untersucht.^[35,36] Zu ersteren gehören die oszillierende Belousov-Zhabotinsky(BZ)- und verwandte Reaktionen,^[37–40] chemische Wellen in Flüssigkeiten,^[41–43] in Gelen^[44,45] oder auf katalytischen Oberflächen,^[46,47] Liesegang-Ringe^[48–50] und andere periodische Niederschlagsmuster^[51,52] sowie Entladungsfilamente.^[53,54] In der Natur verursacht RD die Streifenzeichnung des Achats,^[55] sie formt Stalaktiten in Höhlen^[56] und bestimmt das Wachstum von dendritischem Kalkstein;^[57] RD liegt auch verschiedenen biologischen Phänomenen zugrunde, darunter der Bildung von Bakterienkolonien,^[58,59] der Herzaktivität^[60,61] oder Muster der Haut.^[62,63]

Bei Reaktions-Diffusions-Prozessen bewegen sich die reagierenden Moleküle diffusionsgetrieben durch den Raum. Diese Definition schließt ausdrücklich andere Transportmechanismen wie Strömung, Konvektion usw. aus, die durch von



Bartosz A. Grzybowski erhielt sein Diplom im Jahr 1995 an der Yale University. Er promovierte in physikalischer Chemie an der Harvard University im August 2000 (bei G. M. Whitesides). Im Juni 2003 wechselte er an die Northwestern University, wo er nun Burgess-Professor für physikalische Chemie und chemisches System-Engineering ist. Seine Forschung umfasst die Selbstorganisation dynamischer Systeme im Ungleichgewicht, komplexe chemische Netzwerke, nanostrukturierte Materialien und Nanobiologie. Er erhielt den ACS Colloids Young Investigator, NSF CAREER und den Gerhard Kanig Innovation Award. Sein erstes Buch, „Chemistry in Motion: Reaction-Diffusion Systems for Micro- and Nanotechnology“, erschien 2010 bei John Wiley & Sons.

außen angelegte Felder angetrieben werden, ebenso wie weniger übliche Diffusionsvarianten wie die anomale Diffusion (Subdiffusion, Superdiffusion; vgl. Lit. [64–66] für eine ausführlichere Übersicht).

Diffusion wird durch thermisches Rauschen getrieben und erzeugt einen Fluss, der dem lokalen Konzentrationsgradienten proportional ist. In einer Dimension ist die Teilchenstromdichte (also die Zahl der Moleküle, die pro Zeiteinheit durch eine Flächeneinheit hindurchtreten) gegeben durch $\vec{j}(x, t) = -D \partial c(x, t) / \partial x$, wobei D für den Diffusionskoeffizienten steht. In drei Dimensionen gilt das erste Ficksche Diffusionsgesetz $\vec{j}(x, y, z, t) = -D \nabla c(x, y, z, t)$, mit ∇ als Gradienten- oder Nabla-Operator. Da bei der Diffusion die Zahl der Moleküle gleich bleibt, ist der Netto-Diffusionsfluss in jedes kleine Raumelement gleich der Konzentrationsänderung in diesem Element (Abbildung 2a). Für den eindimensionalen Fall lässt sich leicht zeigen, dass dies synonym ist mit $\partial(\vec{j}(x, t)) / \partial x + \partial c(x, t) / \partial t = 0$ oder (wenn man auf das Ficksche Gesetz zurückgreift) mit $\partial c(x, t) / \partial t = D \partial^2 c(x, t) / \partial x^2$ (unter der Voraussetzung, dass D konstant ist). Ins Dreidimensionale verallgemeinert ergibt sich daraus $\partial c(\vec{r}, t) / \partial t = D \nabla^2 c(\vec{r}, t)$, wobei \vec{r} ein Positionsvektor ist.

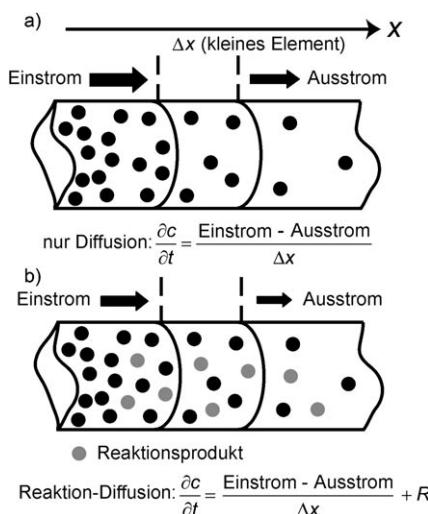


Abbildung 2. a) Diffusion und b) Reaktion-Diffusion in einem eindimensionalen System, hier einer dünnen runden Röhre.

Wenn innerhalb eines Raumelements eine Reaktion abläuft, können Moleküle einer oder mehrerer Arten entsprechend der spezifischen Reaktionskinetik entstehen oder verbraucht werden (Abbildung 2b). Diese Ereignisse müssen zusätzlich in der Diffusionsgleichung berücksichtigt werden, sodass man eine RD-Gleichung der allgemeinen Form $\partial c_i / \partial t = D_i \nabla^2 c_i + R_i(\{c_j\}, t)$ erhält, in der i Moleküle eines spezifischen Typs bezeichnet sind und $\{c_j\}$ ein Satz von Konzentrationen ist, von denen der Reaktionsterm R_i abhängt. Die Abhängigkeiten von c_i von Zeit und Position wurden nicht berücksichtigt, um die Notation zu vereinfachen. Wenn in einem einfachen Fall eine Molekülsorte (A) diffundiert und reagiert gemäß $dc_A / dt = -kc_A$, lautet die RD-Gleichung $\partial c_A / \partial t = D_A \nabla^2 c_A - kc_A$. Im Allgemeinen gilt: 1) Es sind so viele Gleichungen zur Beschreibung eines RD-Systems er-

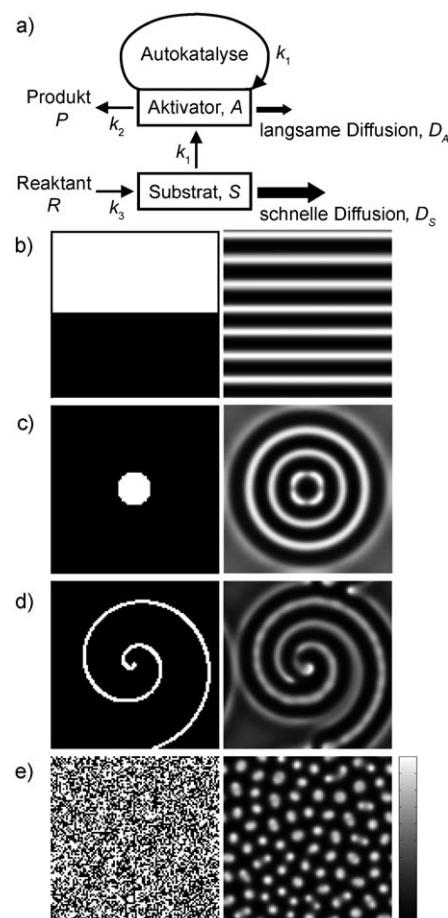


Abbildung 3. Beispiele einer Musterbildung in einem RD-System vom Turing-Typ. a) Reaktionsschema, in dem Reaktand R das Substrat S bildet, das seinerseits zur autokatalytischen Entstehung von A beiträgt. Die lokale Ansammlung von A wird durch die Kombination von Autokatalyse und niedriger Diffusivität von A ermöglicht. b–e) Verschiedene Anfangsverteilungen von A (linke Spalte) bilden verschiedene RD-Musterarten (rechte Spalte). Die Parameter für die Simulationen waren $D_A = 1 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$, $D_S = 2 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$, $k_1 = 1 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $k_2 = 1 \text{ s}^{-1}$ und $k_3 = 1 \text{ m s}^{-1}$. Die Größe der Domäne ist $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ (in den Simulationen durch ein 100×100 -Gitter repräsentiert), es wurden periodische Randbedingungen aufgezwungen. Die Simulationen liefen über 20 s in Zeitintervallen von 0.01 s. In allen Mustern sind hohe Konzentrationen von A weiß und niedrige Konzentrationen schwarz dargestellt.

forderlich, wie es Moleküle gibt, die ihre Konzentration in Raum und/oder Zeit ändern, und 2) das System wird schnell komplex, wenn die Gleichungen untereinander durch Autokatalyse oder Rückkopplungen verknüpft sind. Ein anschauliches Beispiel dafür ist ein System mit nur zwei Zwischenprodukten, A (Aktivator) und S (Substrat), deren Konzentrationen sich gemäß der autokatalytischen Reaktion $2A + S \xrightarrow{k_1} 3A$, der Zerfallsreaktion $A \xrightarrow{k_2} P$ und der Bildungsreaktion $R \xrightarrow{k_3} S$ ändern (Reaktionsschema siehe Abbildung 3a). Da vom Reaktionspartner R angenommen wird, dass er im Überschuss vorliegt, kann seine Konzentration als konstant angenähert werden. Somit sind zwei Gleichungen notwendig, um Reaktion und Diffusion in diesem System zu beschreiben [Gl. (1) und (2)].

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = D_A \nabla^2 c_A + k_1 c_A^2 c_S - k_2 c_A \quad (1)$$

$$\frac{\partial c_S}{\partial t} = D_S \nabla^2 c_S - k_1 c_A^2 c_S + k_3 \quad (2)$$

Darin sind D_A und D_S die Diffusionskoeffizienten von A und S , und k_1, k_2 und k_3 sind die Geschwindigkeitskonstanten. Wenn das Substrat S deutlich schneller diffundiert als der Aktivator A (d.h. $D_S \gg D_A$), kann dieses RD-System eine Reihe komplexer Muster (sogenannte Turing-Muster nach ihrem Entdecker Alan Turing^[67]) aufweisen, die durch das Wechselspiel zwischen lokaler Anhäufung von A durch Autokatalyse und schneller Wegdiffusion von S aus den A -reichen Regionen zustandekommen. Interessanterweise werden die verschiedenen Beispiele für Turing-Muster, die in Abbildung 3 modelliert sind, auch in biologischen Systemen beobachtet, darunter Streifen bei Zebras, konzentrische Kreise bei kleinen Termitenarbeiterinnen,^[68,69] Spiralen bei der Aggregation von Schleimpilzen^[70] und zufällig verteilte Flecken bei Leoparden.

2.1. Grenzfälle und charakteristische Zeiten

Die RD-Gleichungen sind meistens schwer zu lösen, und außer für die einfachsten Fälle sind fortgeschrittene numerische Methoden erforderlich.^[71] Man kann jedoch ohne alle mathematischen Feinheiten ein gutes Gefühl für die wichtigsten Eigenschaften eines RD-Prozesses bekommen. Erstens gibt es zwei Grenzfälle für Reaktions-Diffusions-Systeme. Wenn die Reaktionen viel langsamer sind als die Diffusion der Moleküle („reaktionsbegrenzt“), können die RD-Gleichungen als $\partial c_i / \partial t = R_i(c_i, t)$ angenähert werden; wenn sie viel schneller ablaufen („diffusionsbegrenzt“), lautet die Näherung $\partial c_i / \partial t = D_i \nabla^2 c_i$. Im Allgemeinen können die relativen Reaktions- und Diffusionsgeschwindigkeiten anhand der Größenordnung der „charakteristischen Zeiten“ abgeschätzt werden. Bei Reaktionen sind die charakteristischen Zeiten mit den Reaktionsgeschwindigkeiten korreliert (d.h. $\tau_{i,R} \sim 1/k_i$ für Molekülarten i , die nach einer Kinetik erster Ordnung reagieren). Bei der Diffusion ist die charakteristische Zeit τ_D die Zeit, die ein Molekül oder Objekt benötigt, um eine charakteristische Entfernung L durch Diffusion zu überbrücken, in der der interessierende Vorgang stattfindet (d.h. $L \approx 1 \mu\text{m}$ bei einer RD in einer prokaryotischen Zelle^[34] und $L \approx 30 \mu\text{m}$ bei einem typischen Eukaryoten^[34]). Mit einer Näherung der Größenordnung in den Termen der Diffusionsgleichung gilt $\partial c / \partial t \sim c / \tau_D$ und $D \partial^2 c / \partial x^2 \sim Dc / L^2$; setzt man diese Abschätzungen gleich, erhält man $\tau_D \sim L^2 / D$. (Das gleiche Ergebnis kann man aus der bekannten linearen Beziehung zwischen der mittleren quadratischen Distanz, die ein diffundierendes Teilchen zurücklegt, und der Zeit ableiten.) Zum Beispiel ist die charakteristische Zeit für die Diffusion von GFP durch ein *Escherichia coli*-Bakterium ($L \approx 1 \mu\text{m}$ und Diffusionskoeffizient^[72] $D \approx 7.7 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$) $\tau_D \approx 0.1 \text{ s}$. Findet ein analoger Prozess in einer größeren Eukaryotenzelle statt ($L \approx 30 \mu\text{m}$, Diffusionskoeffizient^[73] $D \approx 8.7 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$), ist diese Zeit mit $\tau_D \approx 10 \text{ s}$ um etwa zwei Größenordnungen länger.

Die dimensionslose Damköhler-Zahl $\text{Da} = \tau_D / \tau_R$ gibt das Verhältnis von charakteristischer Diffusions- und Reaktionszeit an; sie sagt aus, ob der Prozess reaktionsbegrenzt ($\text{Da} \ll 1$) oder diffusionsbegrenzt ($\text{Da} \gg 1$) ist, oder ob Reaktion und Diffusion betrachtet werden müssen und damit die vollständigen RD-Gleichungen behandelt werden müssen ($\text{Da} \approx 1$). Es überrascht nicht, dass die interessantesten Phänomene bei $\text{Da} \approx 1$ beobachtet werden. Die meisten zellulären Systeme, die wir betrachten, fallen in diese Gruppe.

2.2. Dimensionalität

Der zweite Punkt betrifft die Dimensionalität und die durchschnittliche Zeit, die diffundierende Partikel benötigen, um ihre Reaktionspartner zu finden. Intuitiv würde man erwarten, dass ein Teilchen seinen Reaktionspartner an einem bestimmten Ort in einer Entfernung L schneller findet, wenn es auf eine Dimension (d.h. eine Linie) beschränkt ist, als wenn es sich frei in einer zweidimensionalen Ebene oder in einem dreidimensionalen Raum bewegen kann. Für Zellen ist ein lehrreiches Beispiel das einer Domäne vom Radius L , der einen „Kern“ mit dem Radius $a \ll L$ einschließt und in dem die diffundierenden Moleküle am Anfang außerhalb des Kerns gleichmäßig verteilt sind (Abbildung 4). Bei dieser Konfiguration kann man die Ankunftszeit τ_A als die Zeit definieren, die ein Molekül in der Zelle benötigt, um sein Ziel im Kern zu erreichen. Rechnungen, die in den Hintergrundinformationen im Detail ausgeführt sind, ergeben die Gleichungen (3)–(5) für den eindimensionalen Fall [Gl. (3); „lineare Zelle“, Abbildung 4a], den zweidimensionalen Fall [Gl. (4); „Pfannkuchen Zelle“, Abbildung 4b] bzw. den drei-

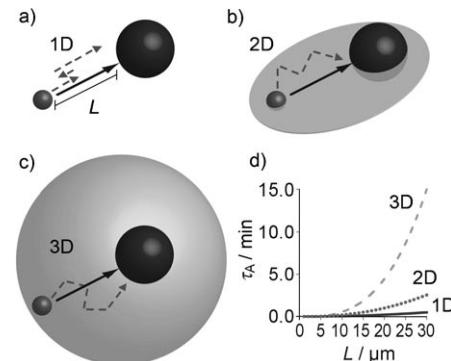


Abbildung 4. Die Dimensionalität beeinflusst die Effizienz des diffusiven Transports. Moleküle (links, kleinere Kreise) erreichen die Reaktionszentren (rechts, größere Kreise) im Abstand L durch Diffusion a) entlang einer eindimensionalen, linearen Trajektorie; b) über eine zweidimensionale Ebene und c) durch einen dreidimensionalen Raum. Graue gestrichelte Kurven deuten „realistische“ Trajektorien an, schwarze durchgezogene Pfeile zum Vergleich die kürzestmögliche Trajektorie. Der Graph in d) zeigt die durchschnittliche Ankunftszeit als Funktion der Domänengröße für ein- (durchgezogene Linie), zwei- (gepunktete Linie) und dreidimensionale Fälle (gestrichelte Linie). Die Ankunftszeit nimmt mit der Dimensionalität zu: Vor allem die Zeit im dreidimensionalen Fall ist signifikant länger als im zwei- oder gar eindimensionalen Fall. Die Parameter zur Erstellung dieses Graphen sind $D = 1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ und $a = 1 \mu\text{m}$.

dimensionalen Fall [Gl. (4); „sphärische Zelle“, Abbildung 4c].

$$\tau_A \approx L^2 / 3D \quad (3)$$

$$\tau_A \approx (L^2 / 2D) \ln(L/a) \quad (4)$$

$$\tau_A \approx (L^2 / 3D)(L/a) \quad (5)$$

In Abbildung 4d sieht man, dass für ein gegebenes a und für veränderliches L die Zeiten für den ein- und zweidimensionalen Fall vergleichbar aber deutlich kleiner sind als für den dreidimensionalen Fall. Die praktische Folgerung aus diesen Betrachtungen ist, dass die Diffusionsgeschwindigkeit, mit der eine Strecke überbrückt werden soll, gesteigert werden kann, indem die Dimensionalität des Systems reduziert wird. Eine wichtige Anwendung dieses Zusammenhangs werden wir in Abschnitt 3.3 zeigen, wenn wir die Suche von Proteinen nach spezifischen DNA-Stellen diskutieren; dabei gleiten die Proteine am (eindimensionalen) DNA-Strang entlang, anstatt sich frei im dreidimensionalen Raum zu bewegen. Ein anderes Beispiel ist die Zellmobilität (Abschnitt 4.1.1): Die Abflachung einer Zelle auf einem Substrat beschleunigt effizient die Diffusion von Molekülen, die an der Signalübertragung beteiligt sind (z.B. GTPasen und Phosphoproteine), zu ihren intrazellulären Zielstrukturen (z.B. im Kern) im Vergleich zur selben Zelle in einem dreidimensionalen, nicht adhärenten Zustand.^[74] In diesem Fall hängt die Zeit für die Signalübertragung von der Länge der kürzesten Diffusionsstrecke ab, die entlang der kurzen Achse einer abgeflachten „Pfannkuchen“-Zelle kleiner ist als in jeder Richtung einer nicht adhärenten, „sphärischen“ Zelle.

2.3 Energetik und Effizienz zellulärer RD

Da Zellen abseits des thermodynamischen Gleichgewichts leben, benötigen sie eine konstante Energiezufuhr, um ihre vitalen Funktionen aufrecht zu erhalten, von denen der Transport von Molekülen durch die Zelle nur eine ist. Wir wollen zunächst prüfen, welche Konsequenzen es hätte, wenn alle Transportvorgänge aktiv wären (also durch energiereiche Moleküle wie ATP, GTP oder NADH getrieben würden). Als Beispiel diene der Transport eines sekretorischen Vesikels entlang von Mikrotubuli, der von Kinesin-Motorproteinen mit ATP als Energiequelle getrieben wird (auch andere Organellen wie Mitochondrien oder Golgi-Vesikel können an Mikrotubuli oder Mikrofilamenten entlang transportiert werden^[75]). Kinesin bewegt sich an Mikrotubuli mit einer Geschwindigkeit von ungefähr $3 \mu\text{m s}^{-1}$, und ein einzelner Schritt ist etwa 8 nm lang^[75,76] – das Motorprotein führt also etwa 375 Schritte pro Sekunde aus, von denen jeder ein ATP-Molekül verbraucht. Bei etwa 1000 sekretorischen Vesikeln, die ständig über Mikrotubuli in eukaryotischen Zellen transportiert werden,^[77,78] beträgt der Energieverbrauch des Vesikeltransports demnach 3.75×10^5 ATP pro Sekunde. Andererseits enthält eine Zelle insgesamt um 10^9 ATP-Moleküle,^[75,79] die etwa alle 1–2 Minuten vollständig umgesetzt werden,^[75] sodass der Gesamtverbrauch der Zelle bei unge-

fähr 10^7 ATP-Molekülen pro Sekunde liegt. Die Kinesinmotoren für den Transport von 1000 Vesikeln an Mikrotubuli entlang nimmt also etwa 4% des ATP-Vorrats der Zelle in Anspruch. Dies ist allerdings nur eine sehr konservative Schätzung an der unteren Grenze und sie läge erheblich höher, wenn die Zelle ihre gesamten Bestandteile unterschiedslos nach diesem energieaufwändigen Mechanismus bewegen würde. Würden Hefe-Zellen beispielsweise alle ihre 15 000 Proteine^[80] aktiv transportieren, so würden sie dafür etwa 60% der gesamten Energieressourcen verbrauchen, und es bliebe nur wenig für die anderen Lebensfunktionen übrig.

Die Diffusion ist dagegen hinsichtlich des Energieaufwands „kostenlos“, solange die Konzentrationsgradienten aufrechterhalten werden – in späteren Abschnitten werden wir sehen, dass solche Gradienten einer funktionierenden Zelle inhärent sind, weil Moleküle an verschiedenen Stellen synthetisiert und verbraucht werden. Unter In-vivo-Bedingungen unterliegen die Moleküle in einem Konzentrationsgradienten der zufälligen Brownschen Molekularbewegung, wobei, wie sich aus statistischen Betrachtungen ergibt, ein Nettofluss oder -transport von Gegenden hoher zu solchen niedriger Konzentrationen resultiert, der selbst keinen zusätzlichen Energieaufwand erfordert.

Nach dieser Bekräftigung, dass passiver Transport aus energetischen Gründen erforderlich ist, greifen wir noch einmal kurz die Frage nach der Transportgeschwindigkeit auf. In diesem Zusammenhang mag es erstaunen, dass abhängig von der Größe der Ladung die „normale Zustellung“ per Diffusion genauso effizient sein kann wie die aktive „Eilzustellung“. Dies ist in Abbildung 5 dargestellt; man sieht die charakteristischen Zeiten für diffusiven Transport von sphärischen Teilchen von 3, 10 und 20 nm Größe über eine Entfernung L im Vergleich zu den Zeiten für den Transport entlang von Mikrotubuli. Während bei größeren Teilchen die Diffusion deutlich langsamer abläuft als der aktive Transport, sind die beiden Transportmechanismen bei ca. 3 nm großen Partikeln vergleichbar. Kleine Makromoleküle sollten also in der Zelle in größere Vesikel verpackt werden, bevor sie über Mikrotubuli oder Mikrofilamente auf den Weg geschickt werden, oder sie sollten, wenn die Moleküle einzeln transportiert werden müssen, durch Diffusion anstatt durch den energieaufwändigeren aktiven Transport bewegt werden. Dies ist tatsächlich so und nur wenige Makromoleküle/Proteine (z.B. p53, Neurofilamentprotein, APC-Protein^[81–83]) werden aktiv über Mikrotubuli bewegt. Das wohl wichtigste Beispiel ist das p53-Protein, das an Zellzykluskontrolle, Apoptose, Differenzierung, DNA-Reparatur und -Rekombination und Centrosomenduplikation beteiligt ist und von Dynein an den Mikrotubuli entlang transportiert wird.^[81] Dieses Protein ist allerdings deutlich größer (Durchmesser des p53-Tetramers: ungefähr 50 nm^[81,84]) als typische Proteine, und der Transport durch Diffusion würde 25 mal langsamer ablaufen als aktiv an Mikrotubuli über die Entfernung von 5 μm.

Insgesamt wird der passive/diffusive intrazelluläre Transport durch verschiedene Faktoren beeinflusst: 1) den begrenzten Energiebetrag, der nur für aktiven Transport über filamentöse „Schienen“ abgezweigt werden kann; 2) die Entfernung, die überbrückt werden muss (je größer die Ent-

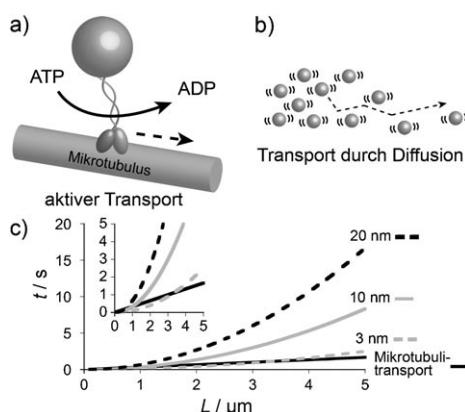


Abbildung 5. Vergleich zwischen aktivem und diffusivem Transport.
 a) Schema eines aktiven Transports, der ATP verbraucht (hier: Kinesin auf einem Mikrotubulus). b) Diffusiver Transport, der durch die zufällige thermische Bewegung (angedeutet durch Klammern um die Partikel) getrieben wird und daher keine Energiezugabe benötigt. c) Zeitbedarf für den Transport von Frachten im Nanometerbereich mit Mikrotubuli (schwarze Kurve) und für die Diffusion 3 nm (gestrichelte graue Linie), 10 nm (graue Linie) und 20 nm (gestrichelte schwarze Linie) großer Frachten. Die Zeit, um ein Partikel von 3 nm Durchmesser durch Diffusion zu bewegen, ist vergleichbar mit der, die man für den Transport des gleichen Partikels über Mikrotubuli benötigt. Bei größeren Ladungen dauert die Diffusion allerdings viel länger. Der Graph wurde mit der Näherung $t \sim L^2/D$ erzeugt, wobei als Diffusionskoeffizient für ein typisches 3 nm großes Protein $D \approx 1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ eingesetzt wurde. Die Diffusionskoeffizienten für größere Partikel wurden mithilfe der Stokes-Einstein-Gleichung $D = kT/3\pi\mu(2R_p)$ (in der $2R_p$ der Partikeldurchmesser ist) angenähert. Der Einschub zeigt eine Vergrößerung der ersten fünf Sekunden der Hauptkurve.

fernung, desto weniger effizient ist der diffusive Transport); und 3) die Größe der Ladung (je kleiner, desto schneller ist die Diffusion).

Nach diesen allgemeinen Betrachtungen wollen wir nun spezifische Situationen betrachten, in denen in Prokaryoten und Eukaryoten diffusionsgetriebener Transport mit biochemischen Reaktionen zu RD-Systemen gekoppelt ist.

3. RD bei Prokaryoten

In den „primitiven“ prokaryotischen Zellen sind aktive Transportmechanismen selten, und Substrate werden normalerweise durch Diffusion zu den Reaktionszentren gebracht. Zu den wenigen Ausnahmen gehören die Segregation von zwei Plasmid-DNA-Clustern durch Schubkräfte, die durch die Polymerisation des bakteriellen Actinhomologen ParM erzeugt werden,^[85–88] oder die Chromosomenaufteilung durch Zugkräfte der ParA-Proteine.^[89–92] Bei den meisten intrazellulären Prozessen sind die charakteristischen Diffusionszeiten mit etwa 0.1 s deutlich länger als die Reaktionszeiten – damit sind die Prozesse insgesamt diffusionsbegrenzt ($\Delta t \gg 1$, siehe Abschnitt 2.1). Bei einigen essenziellen zellulären Funktionen verlaufen Diffusion und Reaktion jedoch in vergleichbaren Zeiträumen. In diesem Abschnitt diskutieren wir die wichtigsten Beispiele solcher RD-Systeme – Signalübertragung, Chemotaxis, Zellteilung und die Erkennung von Zielsequenzen auf der DNA. Diese Beispiele lassen sich

direkt mit analogen Prozessen in eukaryotischen Zellen vergleichen, die wir später behandeln werden.

3.1. Prokaryotische Signalsysteme und Chemotaxis

Viele Signalwege in Bakterien bestehen aus zwei Komponenten und beruhen auf der Phosphorylierung von zwei zentralen Effektorproteinen.^[93,94] Das primäre Protein einer Signaltransduktion ist eine membrangebundene Sensor-Histidinkinase mit einer extrazellulären spezifischen Input-Domäne (die spezifische Signale in der Umgebung registriert), gekoppelt an eine Autokinasedomäne. Die zweite Komponente des Systems ist eine cytosolische Regulatordomäne, die die zelluläre Antwort auslöst. Nach Bindung eines extrazellulären Liganden an die Input-Domäne phosphoryliert sich die Histidinkinase selbst und überträgt die Phosphorylgruppe anschließend auf die Empfängerdomäne des cytosolischen Regulators. Dieses nun phosphorylierte Protein diffundiert durch die Zelle und reagiert mit seinem Zielprotein, das dann die zelluläre Antwort anstößt.

Chemotaktische Motilität von Bakterienzellen^[95] ist ein Beispiel für einen solchen Prozess, der auf einem Zweikomponenten-Signalsystem beruht und in dem RD die Signaltransduktion steuert (Abbildung 6). Bakterien zeigen zwei verschiedene Schwimmuster in Abhängigkeit von der Bewegungsrichtung des Geißelmotors. Eine Rotation gegen den Uhrzeigersinn (CCW, counterclockwise) fasst die Flagellen in ein stabiles Bündel zusammen und erzeugt eine Vorwärtsbewegung (gleichmäßiges Schwimmen). Rotation im Uhrzeigersinn (CW, clockwise) löst das Flagellenbündel

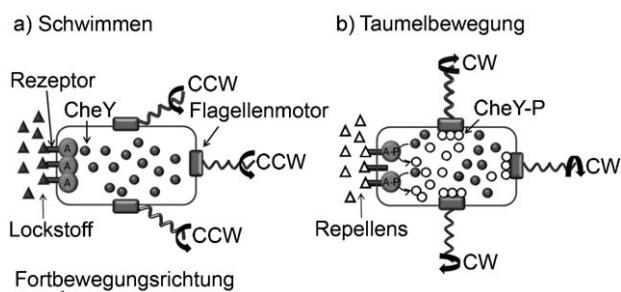


Abbildung 6. RD-Signalsystem aus zwei Komponenten bei chemotaktischer Zellmotilität von Bakterien. Bakterien zeigen zwei verschiedene Schwimmuster, abhängig von der Drehrichtung des Flagellenmotors. Drehung entgegen dem Uhrzeigersinn (CCW) verursacht ein gleichmäßiges Schwimmen, während eine Drehung im Uhrzeigersinn (CW) eine Taumelbewegung hervorruft. a) Wenn der Oberflächenrezeptor Lockstoff-Moleküle (graue Dreiecke) bindet, wird die Autophosphorylierung der CheA-Kinase (mit A bezeichnet) gehemmt und CheY bleibt inaktiv (unphosphoryliert), während es durch das Cytoplasma diffundiert (graue Kreise). Die Flagellen rotieren entgegen dem Uhrzeigersinn, es bildet sich ein stabiles Flagellenbündel und es resultiert eine gleichmäßige Schwimmbewegung in Richtung der zunehmenden Konzentration des Lockstoffs. b) Wenn die Oberflächenrezeptoren jedoch Repellens-Moleküle binden (weiße Dreiecke), wird CheA autophosphoryliert (A-P) und phosphoryliert/aktiviert anschließend CheY. Phosphoryliertes CheY (CheY-P, weiße Kreise) diffundiert zu den Flagellen und reagiert dort mit den Motorproteinen. Dies verändert die Drehrichtung der Flagellen, und die Drehung im Uhrzeigersinn erzeugt die Taumelbewegung der Bakterien.

auf und verursacht eine Taumelbewegung des Bakteriums.^[96] Die Rotationsbewegung der Flagellen wird durch ein Zwei-Komponenten-Signalsystem reguliert: den Komplex aus Rezeptor CheA und Kinase CheW und das CheY-Protein, das als Reaktion auf einen Stimulusgradienten (Lockstoff/Repellens) diffundiert. Cluster des Rezeptor-CheA-Kinase-CheW-Komplexes sind bevorzugt in der Membran an den Polen der Zelle lokalisiert,^[97] wo sie anziehende oder abstoßende Substanzen der Umgebung registrieren und daraufhin den Phosphorylierungszustand des intrazellulären CheY-Proteins verändern. Bei Bindung eines Repellens an die spezifischen Rezeptoren der Zelloberfläche autophosphoryliert sich CheA, woraufhin CheY ebenfalls phosphoryliert/aktiviert wird. Phosphoryliertes CheY (CheY-P) diffundiert zu den Flagellen, wo es mit den Motorproteinen reagiert, die Richtung der Flagellenrotation auf CW verändert und damit eine Taumelbewegung des Bakteriums verursacht (Abbildung 6). Umgekehrt verhindert die Bindung eines Lockstoffs die Autophosphorylierung von CheA und die Aktivierung von CheY, und entsprechend schwimmt das Bakterium in Richtung einer steigenden Konzentration des Lockstoffs. In diesem Prozess wurden als Reaktionszeit der Flagellen – also die Zeit, die für die Diffusion von CheY vom Rezeptor zum Motor und die anschließende Bindung an das Motorprotein erforderlich ist – experimentell 50–200 ms gemessen.^[98,99] Diese Werte liegen nahe bei der theoretisch geschätzten charakteristischen Zeit für die zweidimensionale Diffusion von $\tau_D \sim L^2/D$, die für ein kleines Protein wie CheY im Cytoplasma bei 100 ms liegt (unter der Annahme, dass $L = 1 \mu\text{m}$ und dass der Diffusionskoeffizient von CheY $D = 1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ ^[72,100] ist). Die Geschwindigkeitskonstante für die Assoziation des CheY-Motors liegt bei $k \approx 3 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ^[101,102] und die durchschnittliche Konzentration von CheY in der Zelle bei etwa $3 \mu\text{M}$,^[103] sodass die charakteristische Reaktionszeit für die Assoziation des CheY-Motors ($\tau_R \sim 1/k c_{\text{CheY}}$ für eine Reaktion 2. Ordnung) ebenfalls in der Größenordnung von 100 ms liegt. Daraus errechnet sich eine Damköhler-Zahl $Da = \tau_D/\tau_R \approx 1$ für den Prozess. Entsprechend den Argumenten aus Abschnitt 2.1 ist die Signaltransduktion bei bakterieller Chemotaxis also ein RD-Prozess. Andere beteiligte Vorgänge wie die einleitende Wechselwirkung zwischen Chemorezeptor und Ligand laufen vermutlich im Vergleich zu dem eben beschriebenen Vorgang schnell ab,^[98] brauchen also in der obigen Analyse nicht berücksichtigt zu werden. Das dynamische Verhalten von Molekülen, die an der Chemotaxis beteiligt sind, wurde auch mit einer diskreten, stochastischen Version des RD-Systems mit dem Programm „Smoldyn“ (für Smoluchowski-Dynamik)^[104] simuliert; dieses Modell ergab eine Reaktionszeit der Flagellen von 100–300 ms, die mit den experimentellen Daten überein stimmt.

Ein weiterer Grund, der die „Wahl“ des RD-Mechanismus zur Übermittlung des chemotaktischen Signals rechtfertigt, ist, dass so das durch das Cytoplasma diffundierende CheY-Protein durch andere „Signale“ wie das cytoplasmatische CheZ-Protein modifiziert (dephosphoryliert) werden kann. Solche Modifikationen ermöglichen die gegenseitige Beeinflussung von Signalwegen und die Adaptation^[105,106] der Zelle an externe Signale. Dies lässt sich verdeutlichen, wenn

eine Zelle beginnt, ein Repellens zu registrieren, dessen Konzentration sich um die Zelle herum allmählich ausgleicht. CheY wird bei Wahrnehmung des Gradienten phosphoryliert, diffundiert zu den Flagellen und löst das Taumeln der Zelle anstelle des Vorwärtsschwimmens aus. Nachdem die Konzentration des Repellens sich allerdings ausgeglichen hat, ist es für die Zelle wichtig, in gewissem Umfang die zufällige Fortbewegung auf der Suche nach einem Lockstoff (und nach „Futter“) fortzusetzen. Dies wird durch die Aktivität von CheZ sichergestellt, das CheY-P schnell dephosphoryliert.^[107] Dadurch kann die Zelle wieder schwimmen und die Region, die mit Repellens gesättigt ist, verlassen. Wenn der CheY-Transport aktiv wäre (also über Cytoskelettfasern vermittelt wie bei Eukaryoten), wäre diese Art der Regulation unmöglich (außer, wenn die CheY-Ladung regelmäßig vom Transporter „abgeladen“ würde), und die Zelle könnte nur eingeschränkt auf die regulatorischen Signale von CheZ reagieren.

3.2. Das oszillierende Min-System der bakteriellen Zellteilung

Das nächste herausragende Beispiel von RD in Prokaryoten ist die Zellteilung, wo ein fein austariertes Wechselspiel zwischen Reaktion und Diffusion hilft, die Mitte der Zelle als Stelle für die Teilung festzulegen. Vor der Teilung nimmt zunächst die Zellgröße zu, dann wird das Chromosom dupliziert, und die beiden Kopien werden voneinander getrennt (jede Bakterienzelle hat ein Chromosom, das vor der Zellteilung verdoppelt wird). Der Teilungsprozess beginnt mit der Bildung eines kontraktilen polymeren „Z-Rings“ aus dem Tubulinhomologen FtsZ unmittelbar unterhalb der Cytoplasmamembran.^[108] Die genaue Positionierung des Z-Rings in der Zellmitte ist entscheidend für die gleichmäßige Verteilung der Chromosomen auf die Tochterzellen. In Experimenten mit *E. coli*-Wildtypzellen wurde die Teilungsebene mit der bemerkenswert hohen Genauigkeit von $(50 \pm 1.3)\%$ der Zelllänge festgelegt.^[109] Zahlreiche Untersuchungen^[110–115] haben ergeben, dass diese Präzision durch einen RD-Prozess erreicht wird, an dem die Proteine MinC, MinD und MinE (siehe Abbildung 7) beteiligt sind. Diese Min-Proteine oszillieren zwischen den Zellpolen entlang der Längsachse der Zelle mit einer Periode von etwa 1–2 min.^[116] Wenn das Min-System genetisch ausgeschaltet wird, werden bei 40% der Zellteilungen nucleoidfreie Minizellen gebildet, die durch eine ungleiche Teilung kein Chromosom erhielten.^[110]

MinD ist eine ATPase, die in Gegenwart von ATP dimerisiert (Abbildung 7a). Dadurch werden amphiphile Helices auf dem MinD-Protein exponiert, die mit ihren hydrophoben Bereichen an die Zellmembran binden.^[117] Wichtig ist, dass sich die MinD-Dimere nur in einer Hälfte der Zelle bilden. Als nächstes bindet MinE an membrangebundenes MinD und induziert die Hydrolyse von ATP durch MinD. Danach lösen sich die beiden Proteine MinD:ADP und MinE von der Membran. Das freigesetzte MinD:ADP diffundiert dann zum anderen Zellpol, durchläuft einen ADP-ATP-Austausch und eine Dimerisierung mit anschließender erneuter Anlagerung an der Membran der gegenüberliegenden

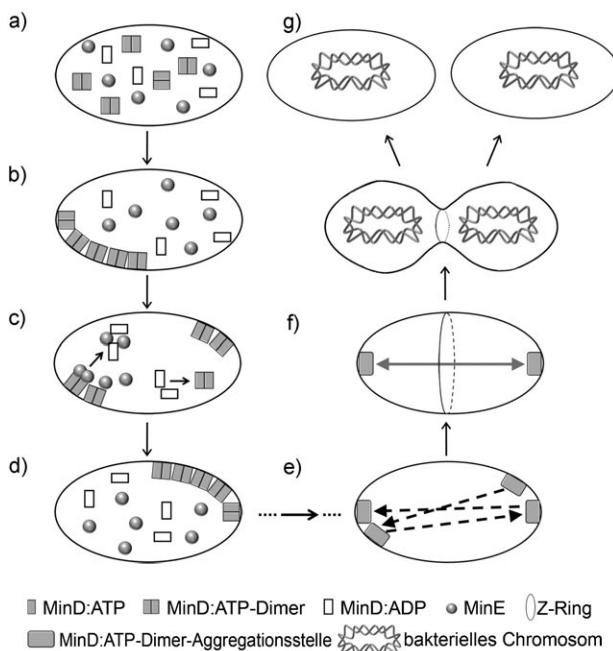


Abbildung 7. Oszillationen des Min-Systems steuern die Bildung des Z-Rings und die Zellteilung bei Bakterien. a) Anfänglich sind die Min-Proteine gleichmäßig in der Zelle verteilt. b) Kleine stochastische Konzentrationsschwankungen führen zu mehr MinD:ATP-Bindung und zu einer Aggregation in einer bestimmten Region der Membran. c) Nachdem die Aggregationsstelle gebildet ist, induziert MinE die Hydrolyse von MinD-gebundenem ATP zu ADP. Dadurch wird die Freisetzung von MinD von der Membran ins Cytoplasma ausgelöst. MinD:ADP wird wieder zu MinD:ATP „aufgeladen“, während es durch das Cytoplasma diffundiert. Da die Originalstelle noch immer MinD:ATP verbraucht, ist die MinD:ATP-Konzentration an der am weitesten entfernten Stelle (quasi „diagonal“ zur Ursprungsstelle) am höchsten; dort beginnt ein neues Aggregationereignis. d) Das Aggregat wächst autokatalytisch an dieser neuen Aggregationsstelle. e) Das Springen der Aggregationsstelle geht weiter, bis die Oszillation entlang der längsten Zellachse fixiert bleibt. f) In diesem stabilen Oszillationszyklus wechselt die Aggregationsstelle zwischen den Zellpolen hin und her. MinC (nicht gezeigt) folgt der Bewegung von MinD und hemmt die Bildung des Z-Rings, der die Ebene der Zellteilung festlegt. g) Weil die Konzentration von MinC im zeitlichen Mittel in der Zellmitte am geringsten ist, teilt sich die Zelle letztlich dort. Die in Wirklichkeit stäbchenförmige Bakterienzelle ist oval gezeichnet, um die Illustration zu vereinfachen.

Zellhälfte. Während dieser Zeit folgt MinC nur der Bewegung von MinD, ohne die Wechselwirkung zwischen MinD und MinE zu beeinflussen. Die entscheidende Funktion von MinC ist es, die Bildung des kontraktilen Z-Rings zu verhindern.^[118] Indem diese Z-Ring-Bildung an der Zellpolen unterdrückt wird, dirigiert das Min-System die Teilungszone genau in die Mitte der Zelle.^[110–115]

Wir wollen nun diese komplexe Sequenz verschiedener Ereignisse in die Schlüsselbestandteile des zugrundeliegenden RD-Prozesses aufzutrennen. Als erstes erkennen wir als wichtigstes Phänomen, dass sich das MinD-Protein immer nur auf einer Hälfte der Zellmembran verankert – wenn anschließend die „Hälften“ zwischen den Zellpolen oszillieren, wird die Position des Z-Rings zwangsläufig festgelegt. Die Frage ist, wie aus der anfänglich gleichmäßigen Verteilung der MinD-Proteine innerhalb der Zelle die unsymmetrische,

auf jeweils eine Zellhälfte beschränkte Verteilung entsteht. Dieser Symmetriebruch kann durch eine Kombination aus autokatalytischer Reaktion und Diffusion erklärt werden. Speziell wenn freie MinD:ATP-Dimere an die Membran binden, ist die Bindungsgeschwindigkeit an solchen Stellen höher, an denen die Konzentration des Produkts (also des membrangebundenen MinD:ATP) ebenfalls hoch ist. In der kinetischen Gleichung (6) für MinD:ATP an der Membran

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = [k_1 + k_2(c_A + c_B)]c_C - k_3c_Ac_E \quad (6)$$

sind k_n die Geschwindigkeitskonstanten, c_A ist die Konzentration des membrangebundenen MinD:ATP (autokatalytisch!), c_B die des membrangebundenen MinD:MinE:ATP-Komplexes (für den gilt $\partial c_B / \partial t = k_3 c_A c_E - k_5 c_B$), c_C ist die Konzentration des freien MinD:ATP in der ganzen Zelle (also nicht nur nahe der Membran), und c_E ist die Konzentration des freien MinE, das die Dissoziation des Komplexes von der Membran induziert (daher das Minuszeichen vor dem zweiten Term).

Natürlich ist diese kinetische Gleichung an die Diffusion von freiem Min (in ATP- und ADP-Form) gekoppelt. Die RD-Gleichungen (7) und (8) beschreiben die Konzentrationsveränderungen von freiem Min.

$$\frac{\partial c_C}{\partial t} = D_C \nabla^2 c_C + k_4 c_D - \delta(r - R)[k_1 + k_2(c_A + c_B)]c_C \quad (7)$$

$$\frac{\partial c_D}{\partial t} = D_D \nabla^2 c_D - k_4 c_D + \delta(r - R)k_5 c_B \quad (8)$$

Dabei ist c_D die Konzentration von freiem MinD:ADP, D_C und D_D sind die Diffusionskoeffizienten von freiem MinD:ATP und MinD:ADP, k_4 ist die Geschwindigkeitskonstante des Nucleotidaustauschs (wenn MinD:ADP in MinD:ATP umgewandelt wird), und k_5 ist die Geschwindigkeitskonstante der Ablösung von MinD:ADP von der Membran ins Cytoplasma. Die Delta-Funktion $\delta(r - R)$ beschreibt die Stelle, an der die Reaktion an der Membran stattfindet. (r ist die räumliche Koordinate und R die spezifische Position an der Membran.) Da die Gegend der MinD:ATP-Aggregation auch die Stelle des Verbrauchs von MinE-Protein ist, ist die Konzentration von MinE dort niedrig. Entsprechend diffundiert verbleibendes freies MinE entlang dem Konzentrationsgefälle und löst dabei weitere MinD:ATP Aggregate auf. Mit den RD-Gleichungen lässt sich dieser Prozess in Gleichung (9) quantifizieren. D_E ist dabei der Diffusionskoeffizient des freien MinE-Proteins.

$$\frac{\partial c_E}{\partial t} = D_E \nabla^2 c_E - \delta(r - R)k_3 c_A c_E + \delta(r - R)k_5 c_B \quad (9)$$

Wenn diese Gleichungen ausgehend von einer gleichmäßigen räumlichen Verteilung (mit einem infinitesimal kleinen Rauschen) aller beteiligten Molekülarten numerisch gelöst werden (Details siehe Lit. [114]), lassen sich damit der Symmetriebruch und die nachfolgenden Min-Oszillationen reproduzieren. Numerische Details würden den Rahmen dieses Aufsatzes sprengen, doch die Abfolge der Ereignisse, die aus

diesen Gleichungen folgt, lässt sich qualitativ beschreiben (siehe Abbildung 7): Zunächst wird jede kleine Störung in der Anfangskonzentration von MinD:ATP – in der Realität durch thermisches Rauschen, in der Computersimulation eingeführt durch die Festlegung der Anfangsbedingungen – durch den autokatalytischen Term in Gleichung (6) verstärkt. Wenn sich die MinD:ATP-Aggregationsstellen bilden, beginnt MinE sie aufzulösen und setzt dabei MinD:ADP ins Cytoplasma frei. Bevor MinD wieder an die Membran binden kann, muss die MinD:ADP-Form wieder zu MinD:ATP „aufgeladen“ werden. Während dieses Nucleotidaustauschs diffundiert MinD:ADP durch das Cytoplasma und etabliert einen Konzentrationsgradienten von MinD:ATP (niedrige Konzentration nahe der Aggregationsstelle, hohe Konzentrationen am weitesten weg von dieser Stelle). Wenn ein Überschuss an MinE schließlich die ursprüngliche Aggregationsstelle auflöst, bildet sich die neue Stelle höchstwahrscheinlich in der entferntesten Region, „diagonal“ über die Zelle, wo sich das meiste neu „aufgeladene“ MinD:ATP befindet (Abbildung 7c,d). Wenn sich dieser „Billard“-Prozess vielfach wiederholt, ist die stabile Konfiguration dann erreicht, wenn die „entferntesten“ Stellen die Pole entlang der längsten Zellachse sind. Die Aggregationsstellen oszillieren dann zwischen den beiden Polen, sodass in der Mitte der Zelle eine niedrige Nettokonzentration des MinD-Proteins (und folglich des MinC-Proteins) vorliegt (Abbildung 7f). Da MinC die Aggregation des Z-Rings verhindert, bildet sich dieser entlang dem Äquator der Zelle. Wenn dies geschieht, werden die duplizierten Chromosomen getrennt, und die Zellmitte bleibt als nucleoidfreie Region zurück. Außerdem werden Komponenten für die Bildung der Zellwand rekrutiert, die dem Z-Ring die Kontraktion und Konstriktion ermöglichen, sodass letztlich die Zelle in zwei Nachkommen geteilt wird, die jeweils ein vollständiges Chromosom enthalten.^[119] Für weitere Ausführungen über die Leistungsfähigkeit des Modells verweisen wir auf Lit. [120].

3.3. Suche spezifischer Bindestellen auf der DNA durch Proteine

Das Aufsuchen spezifischer Stellen auf der DNA durch Proteine ist die Basis vieler wichtiger zellulärer Ereignisse^[121,122] und ist ein weiteres Beispiel für Reaktions-Diffusions-Systeme in prokaryotischen Zellen. Dieser Prozess wird seit langem intensiv diskutiert,^[121,123–125] vor allem, weil die experimentell bestimmten Zeiten, die die Proteine benötigen, um ihre spezifischen Bindestellen auf der DNA zu finden, um ein bis zwei Größenordnungen kürzer sind als die theoretisch für eine dreidimensionale Diffusion vorhergesagten Zeiten.^[121] Diese Diskrepanz wurde zuerst 1970 beim bakteriellen LacI-Repressor beobachtet, der seine Bindestelle im lac-Operon etwa 100 mal schneller findet als bei 3D-Diffusion zu erwarten wäre.^[126,127] In diesem Abschnitt werden wir zwei experimentell bestätigte Mechanismen diskutieren,^[128–130] nach denen DNA-Bindestellen gefunden werden und die durch die Kombination von Reaktion (d.h. Bindung an die DNA) und Diffusion (manchmal modifiziert durch die räumlichen Fluktuationen der DNA) eine signifikante Reduktion der Lokalisationszeiten – im Vergleich zur zufälligen

dreidimensionalen Diffusion^[124,125] – durch eine effiziente Verringerung der Dimensionalität des Suchprozesses erreichen.

3.3.1. Gleiten

Der erste Mechanismus, Gleiten genannt, beruht auf unspezifischen DNA-Bindestellen, die die Zielstelle flankieren.^[128] Da die spezifischen Bindestellen kurz sind (im Nanometerbereich) und auf langen DNA-Strecken (im Mikrometerbereich)^[126,128] spärlich verteilt sind,^[127,128] wird ein zufällig diffundierendes Protein viel wahrscheinlicher zuerst auf eine nichtspezifische DNA-Region treffen. Weil die nichtspezifische Bindung jedoch schwach ist, kann das Protein diffundieren oder entlang der DNA zur Zielstelle hin „gleiten“ (Abbildung 8a). Ausgehend von der Berechnung aus

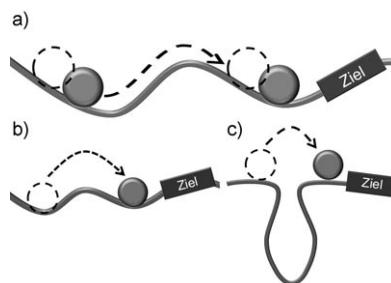


Abbildung 8. Die Reduktion der effektiven Dimensionalität der Protein-Diffusion beschleunigt das Auffinden einer Zielsequenz auf der DNA durch Proteine. Das Schema verdeutlicht drei Suchmechanismen: a) Gleiten, b) Hüpfen, c) Springen. Details siehe Abschnitt 3.3.

Abschnitt 2.2 liegt die Bindungszeit für eine zufällige 3D-Diffusion zu einer Stelle von $a \approx 1 \text{ nm}$ Größe bei $\tau_A \approx (L^2 / 3D_3)(L/a)$; bei den typischen Parametern für die Diffusion in prokaryotischen Zellen (Diffusionslänge $L \approx 1 \mu\text{m}$, 3D-Diffusionskoeffizient $D_3 \approx 1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$) sind das ca. 33 s. Im Gegensatz dazu gilt für die „gleitende“ eindimensionale Diffusion entlang der DNA $\tau_A \approx L^2 / 3D_1$ mit einem typischen experimentell bestimmten 1D-Diffusionskoeffizienten von $D_1 \approx 1 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$,^[128,131] bis zur Bindung dauert es dann nur ca. 3.3 s. Nach dieser vorsichtigen Schätzung ist die 1D-Diffusion um mindestens eine Größenordnung schneller als die 3D-Diffusion (siehe Halford et al.^[127] und Wang et al.^[128] für eine detailliertere Diskussion). Ein klassisches Beispiel für ein Protein, das die DNA-Bindestelle über den Gleitmechanismus aufsucht, ist der schon erwähnte LacI-Repressor.^[126] Dieses besondere Gleiten wurde sorgfältig an einer Fusion aus GFP-Protein und LacI untersucht; dabei konnte man mit TIRFM (Fluoreszenzmikroskopie mit interner Totalreflexion) ein einzelnes fluoreszierendes Molekül bei einer eindimensionalen Brownschen Bewegung am DNA-Strang entlang beobachten.^[128,132]

3.3.2. Hüpfen und Springen

Die zweite Art der beschleunigten Zielfindung geschieht durch „Hüpfen/Springen“. In diesem Fall dissoziert ein

Protein gelegentlich von der DNA und bindet wieder an einer Stelle ein Stück entfernt von der ursprünglichen.^[129] Manchmal ist dieser neue Bindungsort nur wenige Basenpaare vom Ausgangspunkt entfernt („Hüpfen“,^[125,133] Abbildung 8b), manchmal sind aber, bedingt durch die Faltung des DNA-Strangs, auch Stellen, zwischen denen Hunderte von Basenpaaren liegen, benachbart – in solchen Fällen gleitet das Protein nicht die gesamte Entfernung, sondern es überbrückt die Distanz mit einem „Sprung“^[125] (Abbildung 8c).^[134]

Experimentell nachgewiesen wurde, dass Proteine auf der Suche nach ihren DNA-Bindestellen typischerweise gleiten und hüpfen/springen.^[129,135,136] Diese Kombination ändert die Art der Bewegung von der reinen Brownschen Wanderung zum Lévy-Flug, der in vielen biologischen Systemen als optimale Suchstrategie bekannt ist,^[137–140] vor allem, wenn die zu durchsuchende Domäne erheblich größer ist als die Zielstruktur selbst. Mathematisch gesehen ist der Lévy-Flug charakterisiert durch die algebraische Wahrscheinlichkeitsverteilung P für einen Schritt der Länge l gemäß $P(l) = l^{-\mu}$. In diesem Ausdruck ist μ eine Konstante im Bereich von $1 < \mu \leq 3$ – je größer der Exponent, desto mehr verläuft der Flug in kleineren Schritten und desto mehr ähnelt die Bewegung einer Diffusion. Für $\mu = 3$ reduziert sich der Lévy-Flug zu einer zufälligen Brownschen Wanderung, für $\mu = 1$ wird der Prozess durch lange Sprünge bestimmt. Nicht überraschend war der zwingende Nachweis^[137,141] dass die optimale Strategie für die Zielsuche auf der DNA bei dem mittleren Wert $\mu = 2$ liegt, bei dem längere Sprünge dem Protein helfen, den gesamten Raum abzusuchen, während die lokalen Brownschen „Tänzschritte“ genau zu einem nahegelegenen Ziel führen. Es wurde auch experimentell bestätigt,^[129,136,142] dass Gleiten und Hüpfen/Springen auch *in vitro* bei Ionenstärken, die mit den *In-vivo*-Bedingungen vergleichbar sind, stattfinden. Gleiten ist der bevorzugte Mechanismus bei niedrigen Salzkonzentrationen, während Hüpfen/Springen bei höheren Konzentrationen vorherrscht. Eine mögliche Erklärung ist, dass die Salzionen die elektrostatische Anziehung zwischen Protein und DNA abschwächen und so die Ablösung des Proteins erleichtern.^[274] Dies würde das Hüpfen/Springen begünstigen. Die Effizienz des Sprungmechanismus wurde mit weiteren Experimenten gezeigt, in denen DNA-Stränge mit optischen Pinzetten aus der natürlichen Knäuelkonformation in eine vollständig gestreckte Konfiguration gebracht wurde.^[130] Die Geschwindigkeit der Zielfindung im Knäuelzustand (in dem Sprünge möglich sind) war doppelt so hoch wie in der gestreckten Konformation (in der die Sprünge verhindert werden).

4. RD bei Eukaryoten

Eine Reihe während der Evolution nacheinander ablaufender Ereignisse bei ursprünglichen Bakterien^[143,144] führte zur Entstehung der Eukaryoten, was einen Meilenstein in der Entwicklung des Lebens darstellte.^[145] Eukaryotische Zellen sind erheblich größer als prokaryotische (typischerweise 10–30 µm statt ca. 1 µm Durchmesser), und sie bestehen aus einem intrazellulären Cytomembran-Netzwerk (dazu gehören das rau endoplasmatische Retikulum (ER), die damit

zusammenhängende Kernhülle, das glatte ER, die Golgi-Felder, Endosomen und Lysosomen), dem Cytoskelett und dem genetischen Material im Zellkern.^[146,147]

Wie wir bereits in Abschnitt 2.3 begründet haben, begünstigt das größere Volumen der Eukaryoten aktive Transportmechanismen für große membrangebundene Vesikel, Zellorganellen, mRNAs und Proteine entlang definierter Cytoskelett-Trassen (vorwiegend Mikrotubuli, aber auch Actinfilamente). In den meisten Zellen sind die Mikrotubuli polarisiert: das Minus-Ende deutet zum Zellkern hin, das Plus-Ende zur Zellperipherie. Der intrazelluläre Transport entlang den Mikrotubuli wird durch cytosolische Motorproteine vermittelt – durch Kinesine zum Plus-Ende, durch Dyneine zum Minus-Ende. Diese Motorproteine sind an ihre Ladungen (z.B. an Vesikel) und die Führungsschienen (Mikrotubuli) gebunden und nutzen ATP als Energiequelle. Die Polarisierung der Mikrotubuli-Trassen ermöglicht einen ortsgerichteten Transport und somit eine polarisierte Sekretion, Aufrechterhaltung von apikal-basaler Polarität und das Sortieren von Molekülen zu den beiden unterschiedlichen Enden von apikal-basal polarisierten Zellen.^[34]

Aktiver Transport ist effizient bei großen Ladungen und unverzichtbar für die Ablieferung dringend benötigter Moleküle. So beträgt die Diffusionskonstante für ein 100 nm großes Vesikel durch das Cytosol $0.3 \text{ } \mu\text{m}^2/\text{s}$ (bestimmt nach der Einstein-Stokes-Beziehung, siehe Abbildung 5), und das Vesikel würde für die Strecke von der Zellmembran zum Kern (etwa 5 µm) über 80 Sekunden benötigen. Der aktive Transport entlang von Mikrotubuli dagegen läuft mit ca. $3 \text{ } \mu\text{m s}^{-1}$ ^[148] ab, und die Transportzeit beträgt nur etwa 1.7 Sekunden. In einem anderen Fall ermöglicht der gezielte Transport von mRNA zu bestimmten Zellkompartimenten über Mikrotubuli^[149] eine ortsspezifische Proteinsynthese, die besonders bei der Embryonalentwicklung von entscheidender Bedeutung ist^[150–152] (da Abweichungen zu ernsthaften Schädigungen führen können), aber auch bei den meisten anderen Zelltypen gesichert sein muss.^[153–158]

Auch wenn es viele weitere Beispiele gibt, bei denen ein aktiver Transport schnell und effizient ist, kostet dieser viel Energie (siehe Abschnitt 2.3), und viele wichtige Prozesse bei Eukaryoten hängen noch immer von der Diffusion im Zusammenspiel mit biochemischen Reaktionen ab. Die ausgewählten Beispiele sollen soweit wie möglich den in Abschnitt 3 bei Prokaryoten besprochenen entsprechen. Wir werden uns daher im Folgenden genauer mit RD-Prozessen bei der Signaltransduktion, bei der Organisation des mitotischen Spindelapparats und bei der Zellmotilität befassen.

4.1. Signaltransduktion bei eukaryotischen Zellen

4.1.1. Signalwege

Die Signaltransduktion bei eukaryotischen Zellen ist in einzelnen Reaktionswegen angeordnet und reguliert und koordiniert zelluläre Antworten auf extrazelluläre Reize. Zentrales Element der Signalwege ist meistens ein Protein, das in zwei Formen vorkommt; diese können durch zwei Enzyme mit „entgegengesetzter“ Aktivität ineinander überführt werden (Abbildung 10a), beispielsweise eine Protein-

kinase, die andere Proteine phosphoryliert (unter Bildung von Phosphoproteinen) und eine Proteinphosphatase, die die entsprechende Dephosphorylierung vornimmt.^[159]

Die Signaltransduktion beginnt an der Zellmembran mit der Bindung eines Liganden an den zugehörigen Membranrezeptor. Dies aktiviert den Rezeptor, der dann die cytoplasmatischen Signalproteine aktiviert; diese übermitteln das Signal schließlich in den Zellkern, wo sie eine zelluläre Antwort, z.B. eine Genexpression, auslösen.

Im Zusammenhang mit RD ist die entscheidende Beobachtung, dass Kinasen und Phosphatasen – also die Enzyme, die die Signalproteine aktivieren und deaktivieren – in der Zelle räumlich getrennt sind. Die Rezeptorkinasen sind fast ausschließlich an der Zellmembran lokalisiert, während die Phosphatasen oft gleichmäßig im Cytoplasma verteilt sind. Entsprechend werden die Phosphoproteine durch die Kinasen an der Zellmembran phosphoryliert und im Cytoplasma dephosphoryliert. Betrachten wir zunächst den Fall, dass diese räumliche Trennung einen räumlichen Gradienten eines einzelnen Phosphoproteins erzeugt. Der Einfachheit halber gehen wir von einem Fließgleichgewicht aus,^[160,161] in dem die Konzentration des Phosphoproteins, P , durch die RD-Gleichung der Form^[162] $0 = D \nabla^2 P(x) - k_p P(x)$ bestimmt wird. k_p ist die Geschwindigkeitskonstante der Dephosphorylierung (meistens als Reaktion erster Ordnung gut angenähert^[163]), und die Raumkoordinate ist auf $x=0$ für die Membran und $x=1$ für die Oberfläche des Zellkerns normiert. Löst man diese Gleichung für die Randbedingung, dass es keinen Fluss an der Oberfläche des Zellkerns gibt, erhält man ein Konzentrationsprofil, das mit zunehmender Entfernung von der Membran einen etwa exponentiellen Zerfall zeigt, $P(x) \propto \exp(-x/L_{\text{grad}})$, mit einer charakteristischen Zerfallslänge $L_{\text{grad}} = \sqrt{D_p/k_p}$. Mit typischen Werten^[163] von $D_p \approx 1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ und $k_p \approx 1 \text{ s}^{-1}$ beträgt die Distanz, über die die Konzentration von P um etwa eine Größenordnung abnimmt, ungefähr $7 \mu\text{m}$, was im Bereich des Radius einer typischen eukaryotischen Zelle liegt. Eine wichtige Folge davon ist, dass das Phosphoproteinsignal den Zellkern deutlich abgeschwächt erreichen sollte,^[163] was die Effizienz der Zellantwort auf das Signal reduziert oder eine solche Antwort in größeren Zellen sogar unterbindet (z.B. wäre das Signal, das den Kern in den ca. 1 mm großen *Xenopus*-Oocyten erreicht, um einen Faktor von 10^{-140} abgeschwächt!).

Es gibt verschiedene RD-Strategien, mit denen die Zellen eine solche Signalabschwächung überwinden. Eine Strategie ist es, die Zellform zu verändern. Anders als Prokaryoten, die im Wesentlichen immer die gleiche Form einnehmen (z.B. sphärisch bei *Streptococcus* oder stäbchenförmig bei *E. coli*), können sich Eukaryotenzellen abflachen, ausbreiten oder bei der Adhäsion auf Substrat und der Zellmigration dünne Ausläufer bilden. In wandernden Zellen entsteht dadurch in Bewegungsrichtung eine dünnere Vorderkante und eine dicke Rückseite. Es verwundert nicht, dass die Signalweiterleitung auf Phosphoryierungsbasis hauptsächlich am vorderen Ende abläuft, wo die Laufstrecke für das Signal zum Zellkern kürzer ist als vom hinteren Ende her (Abbildung 9).^[74]

Eine andere Möglichkeit ist die Signalweiterleitung durch „Kaskaden“, in denen mehrere Phosphoproteine in Einheiten

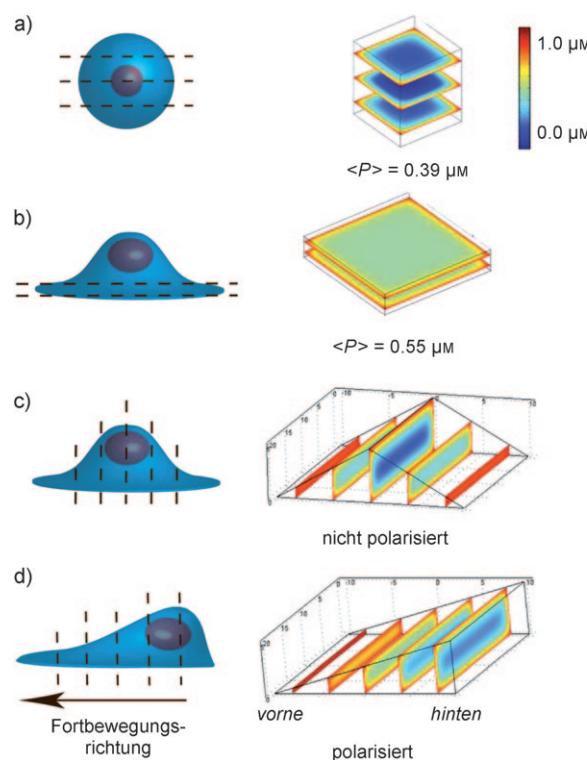


Abbildung 9. Veränderungen der Zellform als Strategie, um die Effizienz der phosphoproteinbasierten Signalgebung zu regulieren. Die Abbildungen in a–d skizzieren die Zellformen und die zugehörigen Phosphoryierungsprofile (d.h. die Konzentrationen des Phosphoproteins P) entlang der gestrichelten Querschnitte. Die Profile wurden nach dem im Text diskutierten Modell für ein einzelnes Phosphoprotein berechnet. In allen Fällen wird das Zellvolumen konstant bei ca. $1000 \mu\text{m}^3$ gehalten, und die Konzentration an der Zellmembran wird auf $1 \mu\text{M}$ festgesetzt. Der Vergleich zwischen sphärischen Zellen in a) und adhärenten Zellen in b) zeigt, dass das Abflachen der Zelle (wie beim Anheften an eine feste Oberfläche) zu einem höheren Phosphoryierungsniveau führt. Die durchschnittliche Konzentration von P ist $0.39 \mu\text{M}$ in sphärischen und $0.55 \mu\text{M}$ in abgeflachten Zellen. In c) und d) wird eine nicht polarisierte mit einer polarisierten Zelle verglichen. In c) ist das Phosphoryierungsprofil symmetrisch bezogen auf die Symmetrieebene der Zelle. d) Wenn die Zelle dagegen polarisiert ist, ist das vordere Ende dünner und stärker phosphoryliert als das hintere Ende. Wiedergabe der Schemata neben den Zellen mit freundlicher Genehmigung von Meyers et al.^[74]

angeordnet sind, die das Signal dominoartig weiterleiten. So wird in der Signalkaskade der mitogenaktivierten Proteinkinase (MAPK, Abbildung 10b) die MAPKK (eine Kinase der Kinase MAPKK) durch die stromaufwärts liegende Rezeptorkinase an der Zellmembran phosphoryliert. Diese phosphorylierte MAPKK (MAPKK-P) phosphoryliert dann MAPKK (eine Kinase der MAPK) im Cytoplasma. Auf gleiche Weise aktiviert die phosphorylierte MAPKK (MAPKK-P) die MAPK (MAP-Kinase), bevor MAPK-P die stromabwärts liegenden Substrate aktiviert und damit eine bestimmte biologische Antwort (d.h. die Expression spezifischer Gene) auslöst.^[75]

Um zu sehen, wie eine solche Kaskade die Signaltransduktion erleichtert, betrachten wir erneut ein Modell im

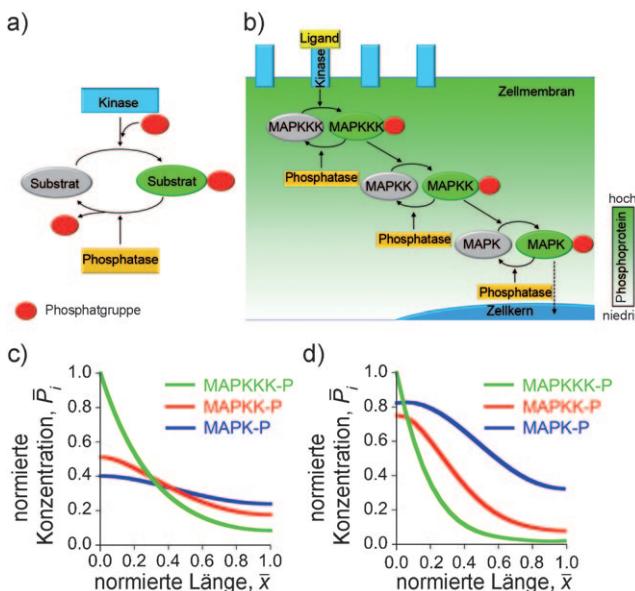


Abbildung 10. Signalwege in Eukaryoten. a) Ein Motiv, das sich regelmäßig in Signalwegen findet: Das signalgebende Protein (Substrat) wechselt zwischen zwei Formen – phosphoryliert (aktiv; rote Kreise be- deuten Phosphatgruppen) und dephosphoryliert (inaktiv) – in einem Prozess, der von zwei Enzymen mit „entgegengesetzten“ Aktivitäten getrieben wird. b) Schema der mitogenaktivierten Protein-(MAP)-Kinase-Kaskade. Die Rezeptorkinase wird durch Bindung eines extrazellulären Liganden aktiviert. Die aktivierte Rezeptorkinase phosphoryliert die MAPKKK und gibt damit das Aktivierungssignal weiter. Die Phosphorylierung aktiviert die MAPKK, die nun die Phosphorylierung und Aktivierung des stromabwärts liegenden Substrats, der MAPKK, katalysiert. Dieser Prozess läuft weiter entlang der Kaskade, bis das Signal den Zellkern erreicht, wo die zelluläre Antwort ausgelöst wird. Die aktiven Formen der MAP-Kinase-Enzyme (MAPKKK-P, MAPKK-P, MAPK-P) werden durch homogen im Cytoplasma verteilte Phosphatase-Phosphatase dephosphoryliert. Durch die räumliche Trennung zwischen Rezeptorkinase (an der Zellmembran) und Phosphatase (im Cytoplasma verteilt) kommt es zur Bildung des Phosphoprotein-Gradienten, der von der Zellmembran zum Zellkern gerichtet ist. c,d) Konzentrationsprofile der phosphorylierten Kinasen im Fließgleichgewicht. c) Konzentrationsprofile eines vereinfachten Modells (siehe Text): In der Nähe des Kerns bei $x=1$ ist die Konzentration von MAPK-P etwa dreimal so hoch wie die von MAPKKK-P. d) Eine ausgefeilte theoretische Betrachtung (siehe Lit. [164]) sagt eine etwa zwanzigfach höhere Konzentration von MAPK-P an der Oberfläche des Zellkerns im Vergleich zu MAPKKK-P voraus.

Fließgleichgewicht, berücksichtigen diesmal aber mehrere phosphorylierte Kinasen, die alle einer Reaktions-Diffusions-Gleichung der Form^[164] $0 = D \nabla^2 P_i(x) + R_{\text{kin}}(x) - R_{\text{pho}}(x)$ folgen. Dabei ist x wiederum eine normierte Raumkoordinate, $P_i(x)$ steht für die normierte Konzentration der phosphorylierten Kinase der i -ten Stufe entlang der Kaskade (d.h. P_1 ist die Konzentration von MAPKKK-P, P_2 von MAPKK-P und P_3 von MAPK-P), R_{kin} ist die Phosphorylierungsgeschwindigkeit der jeweiligen unphosphorylierten Kinase und R_{pho} ist die Dephosphorylierungsgeschwindigkeit aufgrund der Reaktion mit Phosphatase. Entsprechend der Darstellung in Abbildung 10b, und wenn man die Ausdrücke für die Reaktionsgeschwindigkeiten explizit ausschreibt, erhält man als System von Fließgleichgewichts-RD-Gleichungen [Gl. (10)].

$$\begin{aligned} D \nabla^2 P_1(x) - k_1 P_1(x) &= 0 \\ D \nabla^2 P_2(x) + k_2 P_1(x) - k_3 P_2(x) &= 0 \\ D \nabla^2 P_3(x) + k_4 P_2(x) - k_5 P_3(x) &= 0 \end{aligned} \quad (10)$$

Die Terme, die die Geschwindigkeitskonstanten k_1 , k_3 und k_5 beinhalten, beschreiben die Dephosphorylierung der Verbindungen P_1 , P_2 bzw. P_3 im Cytoplasma, während die Terme mit den Konstanten k_2 und k_4 sich auf die Erzeugung von P_2 und P_3 durch die jeweils vorgelagerten Kinasen P_1 und P_2 beziehen. Die Verbindung P_1 wird an der Zellmembran gebildet, und dieser Prozess wird durch die Randbedingung $P_1(x=0) = \text{konstant}$ berücksichtigt; die andere Randbedingung ist, dass kein Fluss irgendeiner Verbindung an der Oberfläche des Zellkerns stattfindet, also $\partial P_i(x)/\partial x|_{x=1} = 0$.

Löst man das Gleichungssystem numerisch, kann das Ergebnis des Kaskadenmodells als Funktion des normierten Abstands dargestellt werden. Maßgeblich ist hier der Vergleich zwischen der Konzentration von MAPK-P, das den Zellkern bei $x=1$ erreicht, und die Konzentration von MAPKKK-P (das in dem weiter oben beschriebenen Ein-Protein-Modell das einzige vorhandene Phosphoprotein wäre) an der gleichen Stelle. Abbildung 10c zeigt, dass das Verhältnis dieser Konzentrationen nahe bei drei liegt, was zeigt, dass die Kaskade das Signal, das den Kern erreicht, effizient verstärkt. Der Verstärkungseffekt ist noch größer, – mit Konzentrationsverhältnissen am Kern bei etwa 20 – wenn im Modell die Kinetik der Phosphorylierung/Dephosphorylierung genauer berechnet wird (Abbildung 10d und Lit. [164]). Doch auch mit diesen Verbesserungen sind die RD-Kaskaden (oder auch Mechanismen mit aktivem Transport über Mikrotubuli) nicht ausreichend, um die Signalübertragung in sehr großen Zellen wie den 1 mm großen *Xenopus*-Oocyten zu erklären. In einigen RD-Modellen wurde zwar versucht, dieses Problem zu lösen, indem man Rückkopplungen von den späteren zu den früheren Kinasen einführt,^[165] doch die Kontroverse ist bei weitem noch nicht aufgelöst, und das Thema bleibt Gegenstand intensiver Forschung.

Ein anderes faszinierendes Beispiel, wie RD-Signalübertragungen beschleunigt und verstärkt – diesmal über die zweidimensionale Mannigfaltigkeit einer Zellmembran – ist die so genannte laterale Phosphorylierungsübertragung (lateral phosphorylation propagation, LPP).^[166] In diesem Prozess werden einige Rezeptoren des epidermalen Wachstumsfaktors (epidermal growth factor receptor, EGFR) in der Zellmembran lokal durch spezifische Rezeptoren aus der Umgebung stimuliert. Nach Bindung der Liganden ändert sich die Konformation der EGFR, sodass sie nun ATP binden, was die intrinsische Kinaseaktivität von EGFR verstärkt. Dies ermöglicht die Phosphorylierung anderer Rezeptoren.^[167] Damit diese „laterale“ Phosphorylierung stattfinden kann, müssen noch nicht aktivierte EGFR zu dem aktvierten EGFR-Zentrum hin diffundieren und mit diesem wechselwirken (Abbildung 11, links). Da die aktivierte Zentren jedoch dünn gesät sind, müssten die inaktiven EGFRs relativ weit diffundieren – durchschnittlich über $L = 20 \mu\text{m}$.^[166] Bei einem Diffusionskoeffizienten von EGFR innerhalb der Membran von $D \approx 3 \times 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ ^[168] läge die Aktivie-

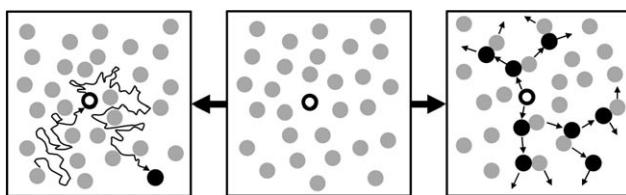


Abbildung 11. Laterale Ausbreitung der Phosphorylierung (LPP): Vergleich zwischen zwei Modellen auf der Basis von Diffusion (ganz links) und Reaktion-Diffusion (ganz rechts). Graue Kreise: inaktive Rezeptoren; weiße Kreise: durch einen extrazellulären Liganden aktivierte Rezeptoren; schwarze Kreise: durch aktive Rezeptoren aktivierte Rezeptoren. Die Ausgangssituation (Mitte) zeigt einen lokal aktiven Rezeptor. Nach dem rein diffusiven Mechanismus muss jeder inaktive Rezeptor weit diffundieren – zuerst zum aktiven Zentrum, um aktiviert zu werden, dann weg, um Platz für nachfolgende Rezeptoren zu schaffen. Dies ist eine sehr ineffiziente und langsame Art der Rezeptoraktivierung, die über mehrere Stunden dauern würde. Dagegen können im Reaktions-Diffusions-Szenario die aktivierten Rezeptoren ihren aktiven Status auf ihre Nachbarn übertragen, die dadurch nur eine kurze Strecke bis zur nächsten aktivierten Stelle diffundieren müssen. Mit diesem RD-Prozess gelingt die Aktivierung vieler Rezeptoren innerhalb von Sekunden.

rungszeit (also die Zeit, die zur Aktivierung aller Rezeptoren auf der Zelloberfläche benötigt wird) bei $\tau \sim L^2/D \approx 200$ min. Tatsächlich erfolgte die Aktivierung in Versuchen mit MCF7-Brustadenokarzinom-Zellen viel schneller, etwa binnen 1 min.^[168] Um diese Diskrepanz zu erklären, wurde vorgeschlagen,^[166] dass die inaktiven EGFR nicht alle zu den Aktivierungszentren diffundieren müssen. Stattdessen brauchten sie nur zum nächsten phosphorylierten Rezeptor zu diffundieren, um dort selbst phosphoryliert zu werden. Einmal phosphoryliert, könnte der frisch aktivierte Rezeptor diesen Status dann an seine Nachbarn weitergeben und so die Kaskade fortsetzen (Abbildung 11, rechts). Um zu sehen, ob dieses Szenario tatsächlich den Aktivierungsprozess über eine Domäne der Größe L beschleunigt, wollen wir die vertrauten Skalenargumente betrachten. Sei δL der durchschnittliche Abstand zwischen zwei Rezeptoren (nicht nur zwischen aktivierte), und $N = L/\delta L$ sei die Zahl der RD-Aktivierungsergebnisse, die ablaufen müssen, bevor alle Rezeptoren aktiviert sind. Die gesamte Aktivierungszeit ist dann $\tau \sim N(\delta L)^2/D = L\delta L/D$.^[166] In humanen Fibroblasten ist die Gesamtzahl der Rezeptoren auf der Zelloberfläche beispielsweise $n_R \approx 100\,000$,^[169] der Radius der Zelle ist $r \approx 10 \mu\text{m}$,^[170] und der Flächenbedarf pro Rezeptor ist $\pi r^2/n_R = 0.003 \mu\text{m}^2$. Dieser Wert entspricht einem durchschnittlichen Abstand zwischen den Rezeptoren von $\delta L \approx 60 \text{ nm}$ und einer Aktivierungszeit von nur ungefähr 40 s, was nahe bei den experimentell beobachteten Werten liegt.

4.1.2. Calciumwellen

Intrazelluläres freies Calcium (Ca^{2+}) ist ein zentraler sekundärer Botenstoff, der an der eukaryotischen Signalübertragung bei Befruchtung, Zellwachstum, Transformation, Sekretion, Kontraktion glatter Muskeln, Reizaufnahme und neuronaler Reizverarbeitung beteiligt ist.^[171–173] Das Calciumsignal manifestiert sich meist in Form von Ca^{2+} -Wellen, die

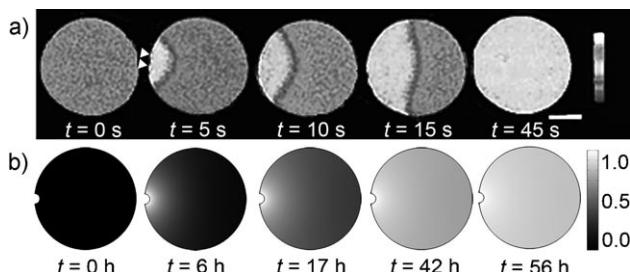


Abbildung 12. a) Konfokale Aufnahmen einer Calciumwelle in Seesternenembryos (im Zeitraffer). Die Embryos werden am linken Rand der Zelle befruchtet (markiert durch weiße Dreiecke), und die Welle pflanzt sich durch die Zelle nach rechts fort. Dafür sind etwa 45 s nötig. Wiedergeben mit freundlicher Genehmigung von Stricker et al.^[174] b) Computersimulation der Fortpflanzung einer Ca^{2+} -Welle durch eine kreisförmige Domäne nach einem hypothetischen, reinen Diffusionsmechanismus. Die Welle wird links ausgelöst und pflanzt sich nach rechts fort. Im Vergleich zu den experimentell erhaltenen Bildern in (a) ist die Front viel diffuser, und die Fortpflanzung dauert erheblich länger – hier etwa 50 Stunden im Vergleich zu weniger als einer Minute in den Experimenten. Die Simulationen wurden bei konstanter Ca^{2+} -Konzentration an der Injektionsstelle, ohne Substanzfluss über den Rest der Zelle als Randbedingung und mit einer Diffusionskonstante $D = 6 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ für Calcium berechnet.

sich über die Zellen ausbreiten (Abbildung 12a). In Eizellen werden solche Wellen durch einen plötzlichen lokalen Anstieg der cytosolischen Ca^{2+} -Konzentration bei der Befruchtung ausgelöst, und ihre Ausbreitung über die Zelle markiert den Beginn der Embryonalentwicklung.^[75,174] Ca^{2+} -Wellen sehen zwar ähnlich aus wie einfache Diffusionsfronten, doch weder die Ausbreitungsgeschwindigkeit noch die Schärfe der Front sind charakteristisch für eine reine Diffusion. Bei Experimenten in *Xenopus*-Eiern wurde die Durchschnittsgeschwindigkeit der Calciumwelle auf ca. $10 \mu\text{m s}^{-1}$ geschätzt, und in etwa einer Minute ist eine 1 mm große Zelle mit Ca^{2+} gefüllt.^[175] Abweichend davon sagen Computersimulationen einer einfachen Diffusion in die gleiche Domäne (mit einem Diffusionskoeffizienten $D \approx 6 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$, der typisch ist für Ca^{2+} in Zellen^[176]) eine „Füllzeit“ von ca. 50 Stunden vorher (Abbildung 12b). Außerdem kann Diffusion alleine die komplexeren Arten der Ca^{2+} -Ausbreitung, die in manchen Fällen beobachtet wurden, nicht erklären (z.B. Kreis- oder Spiralmuster,^[171,177] die den klassischen Belousov-Zhabotinski-Wellen^[178] ähneln; Abbildung 13 f).

Um den Mechanismus der Wellenausbreitung zu erklären, halten wir zunächst fest, dass die Konzentration von Ca^{2+} im Cytosol normalerweise niedrig gehalten wird (ca. 20–100 nm^[173]), indem es an cytoplasmatische Ca^{2+} -bindende Proteine gebunden wird, um die cytotoxischen Effekte zu vermeiden.^[179] Größere Mengen an Calcium werden intrazellulär im endoplasmatischen oder sarkoplasmatischen Reticulum (ER/SR) gespeichert; die Speicher sind über Ca^{2+} -Kanäle und Pumpen mit dem Cytosol „verbunden“ (Abbildung 13a). Wenn Calcium aus einer externen Quelle in die Zelle „injiziert“ wird, läuft bei den ER/SR-Kanälen ein Prozess an, der als calciuminduzierte Calciumfreisetzung (CICR) bekannt ist. Dabei setzt jedes ER/SR den eigenen Ca^{2+} -Vorrat frei, wenn es externem Ca^{2+} ausgesetzt wird; dies wiederum beeinflusst die benachbarten ER/SRs, sodass sich

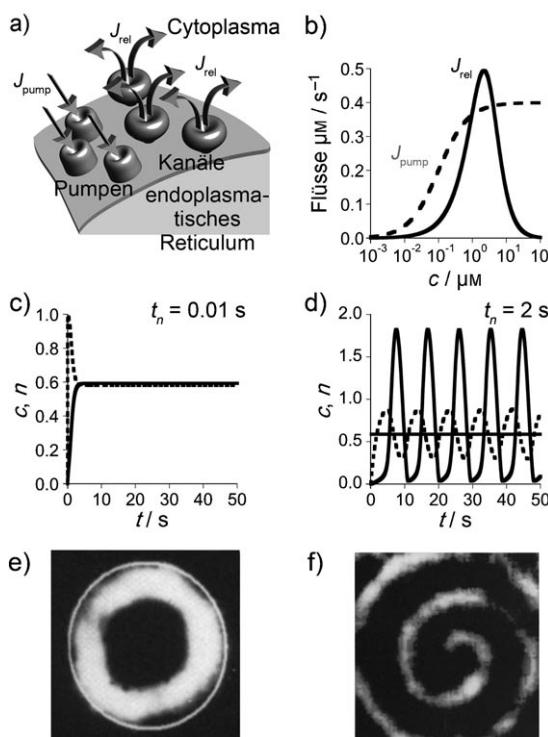


Abbildung 13. Calciumoszillationen und -wellen. a) Fragment des endoplasmatischen Reticulums, das Ca^{2+} speichern und freisetzen kann. Die Freisetzung (beschrieben durch J_{rel}) verläuft über Calciumkanäle. Der Rücktransport ins ER/SR wird durch Calciumpumpen bewerkstelligt (J_{pump}). b) Qualitative Abhängigkeit der Flüsse J_{rel} und J_{pump} von der cytosolischen Calciumkonzentration c . c,d) Berechnete Calciumkonzentrationen c (schwarze Kurven) und die Zahl n offener Kanäle (gepunktete Kurven), aufgetragen als Funktion der Zeit t für zwei Fälle: c) Die Kanäle reagieren auf Änderungen von c sofort (d. h. τ_n ist klein, hier 0.01 s), und d) die Kanäle reagieren mit zeitlicher Verzögerung (d. h. τ_n ist groß, hier 2 s). Im ersten Fall erreicht das System ein Fließgleichgewicht; im zweiten Fall schwingt die Calciumkonzentration um das Gleichgewichtsniveau. c ist in μM aufgetragen, n als Bruchteil der Gesamtzahl der Kanäle. Die waagrechte Linie in (d) entspricht der Gleichgewichtskonzentration in (c). e) Kreis- und f) Spiralwellen, die in *Xenopus*-Eizellen nach Ca^{2+} -Injektion beobachtet wurden.^[177] Wiedergabe von (e) und (f) mit freundlicher Genehmigung von Lechleiter und Clapham.^[177]

die Ca^{2+} -Wellen letztlich schnell ausbreiten. Schlüsselemente der CICR sind 1) die autokatalytische Freisetzung von Ca^{2+} aus den Reticula und 2) die nichtlineare Kopplung zwischen der lokalen Calciumkonzentration und der Aktivität der Calciumkanäle und -pumpen. Diese Elemente lassen sich mit den RD-Gleichungen (11) und (12) beschreiben.^[180,181]

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c + J_{\text{rel}}(c, n) - J_{\text{pump}}(c) \quad (11)$$

$$\frac{\partial n(c)}{\partial t} = (n_\infty - n(c)) / \tau_n \quad (12)$$

Dabei ist c die Calciumkonzentration an einem gegebenen Ort zu einer bestimmten Zeit, J_{rel} ist die Geschwindigkeit, mit der Ca^{2+} aus dem ER/SR freigesetzt wird, und J_{pump} ist die Geschwindigkeit, mit der cytoplasmatisches Ca^{2+} ins ER/SR zurück gepumpt wird. n ist der Anteil der offenen Ca^{2+} -

Kanäle, n_∞ ist der Wert für n im Fließgleichgewicht, und τ_n ist ein Parameter, der die Geschwindigkeit der Reaktion des Kanals auf die Konzentrationsänderung beschreibt: Wenn τ_n klein ist, ist $\partial n / \partial t$ groß und die Reaktion erfolgt schnell; wenn τ_n groß ist, ist $\partial n / \partial t$ klein und die Antwort ist langsam.

Es sind mehrere funktionale Formen der Flüsse J denkbar, doch Experimente^[182,183] und Modelle^[180,184] deuten darauf hin, dass die wichtigste Eigenschaft die glockenförmige Kurve für die Freisetzungsgeschwindigkeit J_{rel} in Abhängigkeit von der lokalen Calciumkonzentration ist (Abbildung 13 b). Im Bereich niedriger Konzentrationen nehmen die Zahl der offenen Kanäle n und der Ca^{2+} -Ausstrom autokatalytisch mit steigendem c zu. Wenn c allerdings weiter ansteigt, schließen sich die Kanäle, und der Ca^{2+} -Ausstrom nimmt ab, um die Toxizität von Calcium zu vermeiden.^[179] Mathematisch lassen sich diese Effekte durch die Kopplung zwischen den Gleichungen (11) und (12) ausdrücken. Das bedeutet, dass c von n abhängig ist [durch $J_{\text{rel}}(c, n)$ in Gl. (11)] und n von c [durch $n(c)$ in Gl. (12)]. Gleichzeitig ist der Fluss von Calcium, das ins ER/SR zurück gepumpt wird, J_{pump} , nur von c abhängig; man nimmt an, dass der Fluss monoton in einer sigmoiden Kurve ansteigt (Abbildung 13 b^[184]).

Die Bildung einer Calciumwelle kann qualitativ so beschrieben werden: Wenn eine Zelle mit externem Ca^{2+} stimuliert wird (oder mit einem Hormon oder Neurotransmitter als Agonist, der an der Bildung von Inosit-1,4,5-triphosphat InsP_3 beteiligt ist, das beim Öffnen der Calciumkanäle hilft^[173]), wird Ca^{2+} autokatalytisch aus den ER/SR-Speichern in der Nähe der Stimulationsstelle freigesetzt. Wenn immer mehr Ca^{2+} ausgeschüttet wird, beginnen sich die Kanäle zu schließen, während Ca^{2+} gleichzeitig kontinuierlich ins ER/SR zurück gepumpt wird. Bei einer bestimmten kritischen Calciumkonzentration halten sich die Freisetzungsgeschwindigkeit (J_{rel}) und der Rückfluss ins ER/SR (J_{pump}) die Waage, und es wird ein Fließgleichgewicht erreicht. Dieses hält eine relativ hohe Calciumkonzentration im Vergleich zur nicht-stimulierten Zelle aufrecht. Da die zusätzliche Calciummenge im Cytoplasma auch diffundieren kann, kann es die Freisetzung von Calcium aus benachbarten ER/SR-Regionen anstoßen, wo sich der Einstrom-/Ausstromprozess wiederholt. Dieser „Dominoeffekt“ setzt sich in Form einer Calciumwelle, die über die ganze Zelle wandert, fort und lässt sie schließlich „aktiviert“ mit hohem Calciumspiegel zurück.^[179] Dieser Zustand kann mehr als zehn Minuten anhalten, doch in der folgenden Erholungsphase bricht er zusammen, wenn Ca^{2+} durch die Kanäle in der Zellmembran aus der Zelle gepumpt wird.^[172]

Die erste Calciumwelle, die über die Zelle läuft, ist für viele biologische Funktionen wichtig. Nach der Befruchtung schreibt man ihr zum Beispiel wichtige Signale für die normale Embryonalentwicklung zu.^[174] In glatten Muskelzellen sorgen Ca^{2+} -Wellen für Entspannung oder Kontraktion der Zellen.^[179] Besonders, wenn kleine, lokalisierte Calciumpulse in der Nähe der Plasmamembran einer Muskelzelle ausgelöst werden, entspannt sich die Zelle. Wenn der externe Reiz allerdings stark genug ist, um die autokatalytische Freisetzung von Ca^{2+} aus dem ER/SR einzuleiten, sodass die Ca^{2+} -Welle sich über die ganze Zelle ausbreitet, kontrahiert die Muskelzelle. In einem anderen Fall regulieren Calciumwellen die

Chloridsekretion von exokrinen Pankreaszellen ins Dünndarmlumen, wo die Cl^- -reiche Pankreasflüssigkeit die Salzsäure aus dem Magen neutralisiert.^[185] Als Reaktion auf die externe Stimulation steigt die Calciumkonzentration am luminalen Pol der Zelle selektiv an. Dies öffnet eine Gruppe von Membrankanälen, durch die Cl^- -Ionen aus der Zelle sezerniert werden. Wenn sich die Calciumwelle, die am luminalen Pol ihren Ausgang nahm, über die Zelle bis zur basolateralen Seite fortgepflanzt hat, öffnet sich dort eine andere Gruppe von Kanälen, die Cl^+ -Ionen in die Zelle aufnehmen, was wichtig für die Aufrechterhaltung der gerichteten Chloridsekretion ist.^[185]

Die Calcium-RD kann sich auch nach der Passage der ersten Welle noch auswirken. In Experimenten^[177] erwiesen sich manche Regionen der Zelle als natürlich erregbar; nach dem Abbeben der ersten Welle können sie weiterhin zwischen hohen und niedrigen Calciumkonzentrationen oszillieren. Während die biologischen Ursachen, aus denen manche Regionen Oszillationen aufrechterhalten und andere nicht, noch diskutiert werden,^[186] lässt sich der Mechanismus der Oszillationen selbst mit den bekannten RD-Gleichungen (11) und (12) erklären (wobei für ortsfeste Oszillationen der Diffusionsterm vernachlässigt wird). Der entscheidende Parameter ist die Kanalreaktionszeit τ_n .

Wenn τ_n klein ist, reagieren die Kanäle fast augenblicklich auf Änderungen der Ca^{2+} -Konzentration (durch Öffnen oder Schließen). Die Dynamik des Systems wird durch das Verhältnis der J_{rel} - und J_{pump} -Flüsse bestimmt und führt, wie wir schon gesehen haben, zu einem Fließgleichgewicht, in dem es keine weiteren Steigerungen oder Absenkungen der Ca^{2+} -Spiegel gibt (Abbildung 13c). Dieses Verhalten ändert sich jedoch drastisch, wenn τ_n groß ist. Dann reagieren die Kanäle mit einer deutlichen Zeitverzögerung auf die Konzentrationsänderungen. Zunächst wird bei noch niedrigem Calciumspiegel durch den „autokatalytischen“ CICR-Mechanismus mehr Ca^{2+} aus dem ER/SR freigesetzt. Nach Erreichen einer ausreichend hohen Ca^{2+} -Konzentration beginnt der „Ausfluss“-Kanal sich zu schließen, doch der Vorgang ist langsam und kann nicht verhindern, dass die cytosolische Calciumkonzentration Werte bis $1.8 \mu\text{M}$ erreicht, also signifikant mehr, als im Fließgleichgewicht mit einer sofortigen Reaktion des Kanals zu erwarten wäre. Erst, wenn das Cytosol mit zusätzlichem Calcium überflutet wird, werden die „Ausfluss“-Kanäle schließlich geschlossen, und die Zelle verlässt den unnatürlichen Zustand hoher Calciumkonzentration, indem Ca^{2+} zurück ins ER/SR gepumpt wird. Während dessen beginnen die „Ausfluss“-Kanäle sich wieder zu öffnen, allerdings langsam und mit einer Zeitverzögerung. Dadurch wird die Ca^{2+} -Konzentration im ER/SR unnatürlich hoch, während sie im Cytosol sehr tief sinkt (bis auf ca. $0.04 \mu\text{M}$). Wenn sich die Kanäle endlich wieder öffnen, beginnt der schnelle Fluss ins Cytosol und der Ausstrom-Einstrom-Zyklus wiederholt sich. Insgesamt ermöglichen die Verzögerungen der Kanalreaktionen dem System, mit den Calciumkonzentrationen um ein „gewünschtes“ Gleichgewicht zu pendeln, ohne dieses zu erreichen (Abbildung 13d).

Oszillationen der Calciumkonzentration sind wichtig zur Regulation der Signale im Zellkern, also zur Regulation der Genexpression durch Transkriptionsfaktoren (TF).^[187,188]

Anders als bei konstant niedrigen Ca^{2+} -Konzentrationen können Oszillationen periodisch den Schwellenwert überschreiten, der für die TF-Aktivierung erforderlich ist, und so die Effizienz der Signalgebung steigern.^[187] Außerdem kann die Frequenz der Ca^{2+} -Oszillationen die Genexpression kontrollieren.^[189] Untersuchungen der Genexpression in T-Lymphocyten, die durch drei Transkriptionsfaktoren ausgelöst wird, ergaben,^[187,188] dass seltene Ca^{2+} -Oszillationen nur einen dieser Faktoren aktivieren, während hochfrequente Oszillationen alle drei Faktoren rekrutieren und so eine frequenzspezifische Expression proinflammatorischer Cytokine verursachen. Auf der Grundlage von In-vitro-Versuchen vermutet man, dass die CaM-Kinase II ($\text{Ca}^{2+}/\text{Calmodulin-abhängige Kinase II}$) eine zentrale Rolle bei der Übersetzung der Oszillationsfrequenzen in unterschiedliche Grade der Kinaseaktivität spielt.^[190] Wenn lokale Oszillationen auch noch mit Diffusion gekoppelt sind, können sie ER/SR-Speicher in der Nähe beeinflussen und mehrfache Ca^{2+} -Wellen auslösen, die sich als Muster oder Spiralen^[171,177] (Abbildung 13e,f) über die Zelle ausbreiten. Obwohl die Rolle dieser komplexen raumzeitlichen Strukturen noch nicht verstanden ist, vermutet man, dass Informationen, die in ihrer Amplitude, Frequenz und Ausbreitungsart verschlüsselt sind, die intrazelluläre Signalgebung beeinflussen.^[171,177]

Für weitere Beispiele zur RD-basierten Signalgebung verweisen wir auf Lit. [165,191] und außerdem auf Lit. [192,193] für eine Diskussion calciumverwandter NAD(P)H-Wellen. Wir wenden uns jetzt RD-Prozessen zu, an denen größere Cytoskelettstrukturen beteiligt sind. In Abschnitt 3.2 wurde ein komplizierter Mechanismus geschildert, bei dem Konzentrationsoszillationen der Min-Proteine die Zellteilung bei Prokaryoten vermitteln. Im nächsten Abschnitt werden wir sehen, wie Eukaryoten das gleiche Ziel mit einem ganz anderen Mechanismus erreichen,^[194] indem sie RD mit den Mikrotubuli genannten Cytoskelettfasern koppeln.

4.2. Die Selbstorganisation der Mitosespindel, getrieben durch von den Chromosomen erzeugte Ran-GTP-abhängige Gradienten

Mikrotubuli (MTs) sind hohle Röhren aus 13 Protofilamenten, die ihrerseits aus α - und β -Tubulin-Heterodimeren bestehen. In eukaryotischen Interphase-Zellen (die sich nicht teilen) sind MTs oft als radiales Feld, das von den Centrosomen etwa im Zentrum der Zelle ausgeht, organisiert. MT-Minusenden sind blockiert und am Centrosom verankert, während die Plusenden zufällig zwischen Wachstums- und Abbauphasen wechseln und so das Cytoplasma abtasten. Zur Vorbereitung der Zellteilung verdoppeln sich die im Cytoplasma liegenden Centrosomen und bilden den Ursprung für zwei radiale MT-Felder, die kürzer und dynamischer sind als die MTs während der Interphase. Sobald die Kernmembran sich auflöst, erhalten die MT-Plusenden dieser beiden Felder Zugang zu den Chromosomen. Innerhalb von Minuten ordnen sich die Mikrotubuli und die zugehörigen Proteine (darunter die Motorproteine) zur bipolaren mitotischen Spindel an, einer Struktur, die die duplizierten Chromosomen

mit überraschender Präzision auf die beiden Tochterzellen verteilt. Wenn sich die Spindel ausbildet, wachsen die MT-Plusenden auf die Chromosomen zu, und wenn sie dort von den Kinetochoren (Proteinkomplexe in der Mitte eines jeden Chromosoms) eingefangen werden, binden sie stabil und erzeugen Kräfte, die die Chromosomen eines jeden Paars zu den gegenüberliegenden Zellpolen ziehen.^[195]

Während die Suche und Anheftung der MT an die Chromosomen ursprünglich als Prozess des zufälligen „Suchens und Bindens“ aufgefasst wurden,^[196] wurde in einer späteren Computeranalyse nachgewiesen, dass dies viel zu ineffizient wäre, um in kurzer Zeit (etwa 30 min) die Verbindung von MT mit allen Kinetochoren (46 Paare in menschlichen Zellen) herzustellen, was für den Abschluss der Mitose erforderlich ist. Stattdessen könnte ein auf die Chromosomen gerichtetes Suchen und Binden die experimentell beobachtete MT-Einfanggeschwindigkeit erklären.^[197] Außerdem deuten Experimente mit acentrosomalen eukaryotischen Zellsystemen (z.B. viele Oocyten, höhere Pflanzenzellen und auch Tierzellen mit zerstörten Centrosomen), bei denen sich die Kernspindel ohne Centrosomen selbst organisiert, darauf hin, dass von den Chromosomen ein Signal ausgeht, das die Organisation der Spindel leitet^[198–201] – dieses Signal und gleichzeitig die entscheidende (und konservierte) Komponente für die Spindelorganisation ist Ran, eine kleine GTPase aus der Ras-Überfamilie.^[202] Von Bedeutung für unsere Betrachtung ist, dass durch RD eine Reihe von Ran-GTP-abhängigen Gradienten um die mitotischen Chromosomen erzeugt wird und dass diese Gradienten die Organisation der Kernspindel orchestrieren, indem sie Positionsmarkierungen für die MT-Keimbildung, die Stabilisierung der centrosomalen MT und eventuell für das asymmetrische oder gerichtete Wachstum der MT auf die Chromosomen hin liefern.^[162,203,204]

Die komplexe Sequenz von Ereignissen, die zur Bildung dieser Gradienten führt, lässt sich wie folgt beschreiben (Abbildung 14a): In der Nähe der Chromosomen ist die Konzentration von Ran-GTP hoch, im Cytoplasma die Konzentration von Ran-GDP. Dieser Unterschied entsteht durch die räumliche Trennung der Proteine, die die beiden Ran-Formen ineinander umwandeln. Der Ran-Guanin-Austauschfaktor (guanine exchange factor, GEF), der ausschließlich bei den mitotischen Chromosomen lokalisiert ist, wandelt Ran-GDP in Ran-GTP um. Wenn andererseits Ran-GTP von den Chromosomen wegdiffundiert, wird es zu Ran-GDP hydrolysiert und zwar entweder direkt durch das cytoplasmatische Ran-GTPase-Aktivierungsprotein RanGAP oder durch Wechselwirkung mit dem Ran-Bindeprotein RanBP1. Resultat ist ein steiler Gradient von freiem Ran-GTP um die Chromosomen. Nicht hydrolysiertes Ran-GTP kann an Proteine der Importin-β-Familie binden und sehr stabile Ran-GTP-Importin-β-Komplexe bilden. Diese Komplexbildung verhindert die Ran-GTP-Hydrolyse,^[205] sodass der Ran-GTP-Importin-β-Komplex weit von den Chromosomen wegdiffundieren kann, bevor er von der cytoplasmatischen RanGAP wieder zu Ran-GDP umgewandelt wird. Insgesamt reicht der Gradient von Ran-GTP-Importin-β weiter in die Zelle hinein als der steile Gradient von unkomplexiertem Ran-GTP.^[203]

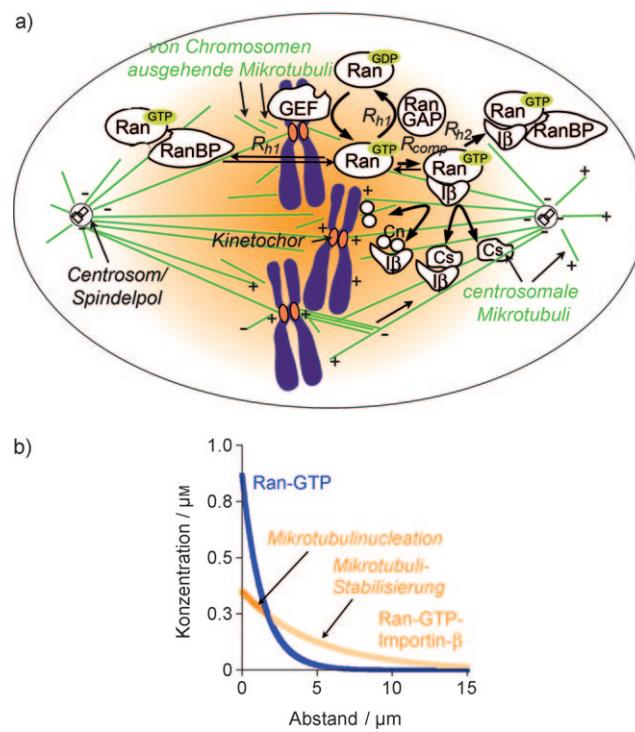


Abbildung 14. Gradient der Ran-GTP-Importin-β-Komplexe und die Bildung der Kernspindel. a) Schema einer entstehenden Kernspindel. MTs (grün, lange Tubuli), die an den Centrosomen an beiden Polen einer sich teilenden Zelle entspringen, wachsen asymmetrisch auf die Chromosomen (blau) im Zentrum der Zelle zu. Außerdem entspringen auch MTs an den Chromosomen (grün, kurze Tubuli); diese werden ebenfalls in die vollständige bipolare Spindel eingebaut. Ran-GTP, das an den Chromosomen gebildet wird, diffundiert durch das Cytoplasma und bildet verschiedene Proteinkomplexe (siehe Text für nähere Erläuterungen der verschiedenen Wechselwirkungen). Durch die Komplexbildung mit cytoplasmatischem Importin-β entsteht ein steiler Ran-GTP-Gradient und ein weiter reichender Gradient von Ran-GTP-Importin-β (orange Wolke). b) Die Gradienten als Funktion des Abstands von den Chromosomen ($x=0$). Die Gradienten stellen räumliche Markierungen für die Keimbildung von Mikrotubuli an den Chromosomen und für das asymmetrische centrosomale MT-Wachstum dar. Der Ran-GTP-Importin-β-Gradient hat verschiedene kurz- und weitreichende Effekte durch die Freisetzung von zwei Arten NLS-enthaltender Proteine, mit denen Importin-β beladen ist: Freisetzung der ersten dieser Frachten (Cn) ermöglicht die Keimbildung von MT nahe den Chromosomen; Freisetzung der zweiten Fracht (Cs) stabilisiert das MT-Wachstum in größerer Entfernung und richtet so das MT-Wachstum auf die Chromosomen aus.

Die entscheidenden Eigenschaften der Gradientenbildung und -ausbreitung sind in einem einfachen und lehrreichen RD-Modell abbildbar [Gl. (13) und (14); zusätzliche Details enthält Lit. [203]].

$$\frac{\partial \text{Ran}}{\partial t} = D_{\text{Ran}} \nabla^2 \text{Ran} - R_{h1} - R_{\text{comp}} \quad (13)$$

$$\frac{\partial \text{Ran}\beta}{\partial t} = D_{\text{Ran}\beta} \nabla^2 \text{Ran}\beta - R_{h2} + R_{\text{comp}} \quad (14)$$

Dabei steht Ran für die Konzentration von Ran-GTP, $\text{Ran}\beta$ für den Ran-GTP-Importin-β-Komplex im Cytoplasma; R_h

ist die Geschwindigkeit der Ran-GTP-Hydrolyse oder des Abbaus nach anderen Mechanismen, R_{h2} ist die Geschwindigkeit des Ran-GTP-Importin- β -Verbrauchs in andere Komplexe und anschließende Hydrolyse und R_{comp} ist die Geschwindigkeit der Komplexierung von Ran-GTP mit Importin- β (Abbildung 14a). Die wichtigste Eigenschaft des Modells ist die Tatsache, dass $R_{h1} \gg R_{h2}$ gilt. Ohne Komplexierung wird Ran-GTP durch den R_{h1} -Term schnell erschöpft und der Gradient wird steil und reicht nicht weit. Allerdings wandelt R_{comp} Ran-GTP in einen stabileren Komplex um, der weiter diffundiert, bevor er durch die langsame R_{h2} -Reaktion abgebaut wird. Wenn dieses einfache Modell mit realistischen physikalischen Parametern berechnet wird, sagt es die Reichweite des Gradienten relativ genau voraus (im Vergleich zu den experimentell mit Extraktten mitotischer Froscheier^[203] oder intakten mitotischen Zellen ermittelten Werten^[206,207]).

Die Bildung des weitreichenden Ran-GTP-Importin- β -Gradienten ist entscheidend für die Organisation der Kernspindel, denn zum einen bindet Importin- β an verschiedene NLS-haltige Proteine (NLS = Kernlokalisierungssignal), die die MT-Dynamik und Polymerisation regulieren,^[208–210] und zum anderen werden diese Regulatoren freigesetzt, wenn Importin- β Ran-GTP komplexiert.^[209,210] Zwei verschiedene Arten von MT-Regulatoren – Keimbildner und Stabilisatoren – werden an verschiedenen Stellen freigesetzt und ermöglichen so die kurz- und weitreichenden Effekte des Chromatins auf die MT-Dynamik. Die Freisetzung von MT-Keimbildnern erfordert hohe Konzentrationen an Ran-GTP-Importin- β , sodass die Keimbildung neuer MTs in der Nähe der Chromosomen geschieht. Andererseits kann die Freisetzung von MT-Stabilisatoren bei niedrigeren Ran-GTP-Importin- β -Konzentrationen ablaufen und daher auch näher an den Centrosomen stattfinden (Abbildung 14b).^[203]

Keimbildung und Stabilisierung sind wichtig für die Organisation der Kernspindel. Die Plusenden von MT, die nahe den Chromosomen initiiert wurden, sind auf den Kinetochoren lokalisiert. Da diese Plusenden immer weiter polymerisieren, werden die Minusenden rückwärts ins Cytoplasma geschoben. Diese MTs bündeln sich und wachsen weiter, bis ihre Minusenden eingefangen und durch einen motorproteinabhängigen Mechanismus entlang centrosomaler MTs zum Spindelpol transportiert werden.^[211,212] Gleichzeitig suchen die MTs, die von den beiden Centrosomen ausgehen, das Cytoplasma nach den Kinetochoren der Chromosomen ab.^[213] Dabei werden sie von den durch RD erzeugten Gradienten^[203] von Signalmolekülen (wie dem hier beschriebenen Ran-GTP, siehe aber auch Lit. [206] und [162]) geleitet. Diese Gradienten richten das Wachstum der centrosomalen MTs effizient auf die Chromosomen aus, um sicherzustellen, dass alle Chromosomen über mehrere (ca. 15–30) Mikrotubuli an die Spindelpole angeheftet sind. Anders ausgedrückt werden durch diesen in zwei Richtungen ziellenden Wachstumsmechanismus Kinetochoren mit Centrosomen und Centrosomen mit Kinetochoren verbunden. Wenn diese bipolare MT-Anheftung erfolgt ist, ist die Zelle bereit für das nächste Mitoestadium – die Aufteilung des genetischen Materials.^[214]

4.3. Motilität eukaryotischer Zellen

Wir haben die Abhandlung der RD in Prokaryoten mit der Diskussion bakterieller Chemotaxis begonnen (Abschnitt 3.1) und werden unsere Betrachtung zellulärer RD-Systeme mit der Analyse eines viel komplexeren Mechanismus von Eigenantrieb und Sensorik in Eukaryoten beschließen. An der Motilität eukaryotischer Zellen sind verschiedene Cytoskelett-Bestandteile beteiligt, die die Zellform, das Adhäsionsverhalten gegenüber der Umgebung, den Zustand der Zellpolarisation, die Vorstülpungen am vorderen Ende der Zelle und das Nachziehen des hinteren Endes kontrollieren. Im Zusammenwirken ermöglichen diese Teilprozesse eine gerichtete Bewegung der Zelle, was unverzichtbar ist während der Entwicklung,^[215] bei Reparation und Regeneration von Geweben,^[216] für die Plastizität von Neuronen^[217] und die Immunüberwachung,^[218] aber auch bei pathologischen Vorgängen wie der Tumormetastasierung.^[219,220] Relevant für unsere Überlegungen ist, dass Reaktions-Diffusions-Mechanismen wichtig ist, um die Maschinerie für die Zellmotilität räumlich und zeitlich zu koordinieren.

4.3.1. Schub nach vorne: Actin

Globuläres Actin (G-Actin) ist eines der häufigsten und in der Evolution am stärksten konservierten Proteine mit der einmaligen Fähigkeit, zu 3–7 μm langem filamentösem Actin (F-Actin) zu polymerisieren.^[221] F-Actin ist intrinsisch polarisiert in dem Sinne, dass Actin-Monomere mit gebundenen ATP-Nucleotiden (ATP-G-Actin) am (+)-Ende („barbed“ end) des Filaments angefügt werden, während am (−)-Ende („pointed“ end) das ATP zu ADP hydrolysiert wird und die Actinmonomere sich ablösen. In-vitro-Experimente^[222] mit Actin/ATP-Extrakten deuten darauf hin, dass diese dynamischen Vorgänge vom Reaktions-Diffusions-Typ sind^[222] und den „Tretmühleneffekt“ bei den Actinfilamenten erzeugen,^[222–224] bei dem das (+)-Ende beständig auf Kosten des schrumpfenden (−)-Endes wächst. In wandernden Zellen bilden sich die Actinfilamente an der Vorderkante der Zelle, wo sie sich als dichtes verzweigtes Netzwerk organisieren, in dem die (+)-Enden zur Zellmembran hin orientiert sind und die (−)-Enden zum Zellinneren und zum hinteren Ende der Zelle. Da sich das gesamte Netzwerk permanent in dem beschriebenen Umbau befindet (Abbildung 15),^[225] schiebt es die Zellmembran effizient vorwärts und ermöglicht die Bildung tastender Ausstülpungen. Diese dynamischen Prozesse sind essenziell für die Zellmotilität.

Weil G-Actin bei diesem Tretmühleneffekt des Netzwerks vorwiegend am vorderen Ende der Zelle verbraucht wird,^[226] während der Abbau der Filamente im Inneren oder am hinteren Ende der Zelle stattfindet, muss es einen Transportmechanismus geben, der G-Actin zur Zellfront bringt, um dort die Polymerisation aufrecht zu erhalten und die gerichtete Zellwanderung zu sichern.^[227,228] Verschiedene RD-Modelle^[227–229] zur Abschätzung der wichtigsten Parameter der Actin-Netzwerkumwälzung besagen, dass die Diffusion eine wichtige Rolle beim G-Actin-Transport spielt. Bei einer angenommenen Länge von $L = 5 \mu\text{m}$ ^[221,230] für ein wanderndes Filament und einem Diffusionskoeffizienten

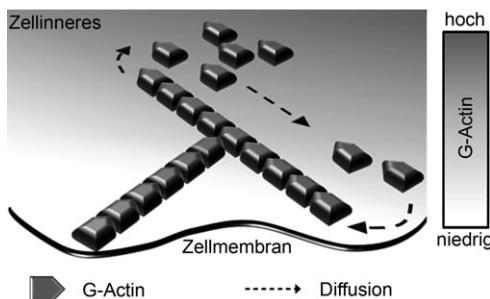


Abbildung 15. Die Actin-„Tretmühle“. Actinfilamente bilden sich an der Vorderkante wandernder Zellen, wo sie sich in einem verzweigten Netzwerk organisieren, wobei das schnell wachsende (+)-Ende zur Zellmembran gerichtet ist und das langsam wachsende (-)-Ende zum Zellinneren. Diese intrinsische Polarisierung der Actinfilamente unterliegt einem RD-basierten permanenten Umbau des Netzwerks nach einem „Tretmühlen“-Mechanismus, bei dem die Gesamtlänge des F-Actins etwa konstant bleibt, während das G-Actin das (+)-Ende kontinuierlich durch Polymerisation verlängert und das (-)-Ende durch Depolymerisation von G-Actin schrumpft (nach Auflösung der Verzweigung, siehe Lit. [225]). Vom (-)-Ende des Filaments freigesetztes G-Actin diffundiert entlang dem Konzentrationsgradienten zur Zellfront, wo es mit dem (+)-Ende reagiert und in das wachsende Filament eingebaut wird.

enten von $D \approx 5 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ ^[231] für G-Actin liegt die charakteristische Diffusionszeit in der Größenordnung von $\tau_D \sim L^2/D = 5 \text{ s}$. Andererseits werden die Actinmonomere am vorderen Ende mit einer Geschwindigkeit von etwa $k = 3 \text{ s}^{-1}$ verbraucht,^[228] woraus sich $\tau_R \sim 1/k \approx 0.3 \text{ s}$ ergibt,^[232] was deutlich kleiner, aber gegenüber τ_D nicht zu vernachlässigen ist. Daher sollte man die (langsameren) Diffusions- und die (schnellere) Reaktionskomponente berücksichtigen, wenn man den Actinumbau modelliert. Auch wenn es andere Abschätzungen gibt und die Debatte um die Grundlagen des Tretmühlenmechanismus bei Weitem noch nicht abgeschlossen ist (siehe z. B. Lit. [233] zur Diskussion eines druckgetriebenen Transports), wollen wir nun die Konsequenzen dieses Phänomens auf der Ebene einer Zelle untersuchen.

Ein faszinierendes Beispiel dazu ist das Reaktions-Diffusions-Modell von Mogilner und Edelstein-Keshet,^[229] das nicht nur die Dynamik des Actin-Cytoskeletts berücksichtigt, sondern auch die daraus resultierende Zellbewegung reproduziert. Während die Details dieses Modells etwas kompliziert sind und über den Umfang dieses Aufsatzes hinausgehen, haben die RD-Gleichungen für die beteiligten vier G-Actin-Molekülarten (Details siehe Lit. [229]) die allgemeine Form in Gleichung (15).

$$\partial c_i / \partial t = -V \partial c_i / \partial x + D \partial^2 c_i / \partial x^2 + R(c_1, \dots, c_N) \quad (15)$$

i ist der Index zur Nummerierung dieser $N=4$ Molekülarten und die Reaktionsterme beschreiben die Polymerisation/Depolymerisation der verschiedenen G-Actine. Der qualitative Unterschied zwischen dieser und herkömmlichen RD-Gleichungen besteht, soweit wir bisher gesehen haben, in dem „Konvektionsterm“ $V \partial c_i / \partial x$, der berücksichtigt, dass sich der Bezugsrahmen (in diesem Fall die Zelle) mit der Geschwindigkeit V bewegt (Abbildung 16a). Auf diese Weise werden die Gleichungen tatsächlich in einem bewegten Be-

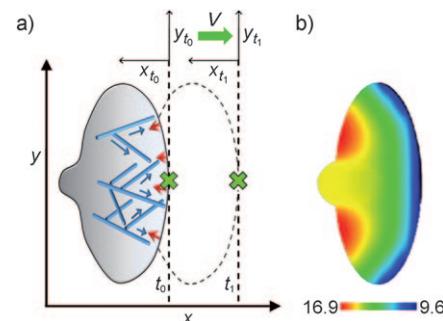


Abbildung 16. RD im Bezugsrahmen einer sich bewegenden Zelle.

a) Eine bewegliche Zelle (hier ein Keratocyt) hat eine polarisierte Form mit einer breiten Ausstülpung am vorderen Ende. Actinfilamente, die in einem verzweigten Netzwerk polymerisieren (blau), schieben gegen die Membran, die einen elastischen Widerstand bietet (rote Pfeile). Die Nettobewegung der Zelle hängt von der Balance zwischen den beiden Effekten ab. Die RD-Gleichungen, die die intrazellulären RD-Prozesse beschreiben, werden im Bezugsrahmen der sich bewegenden Zelle gelöst (Zellgeschwindigkeit V). Der entscheidende Term, $\partial c_i / \partial x$, stellt sicher, dass die Konzentrationsgradienten sich zusammen mit der gesamten Zelle weiterbewegen. Der graue Hintergrund symbolisiert den G-Actin-Gradienten in der Zelle. b) Blick von oben auf die wandernde Zelle. Die Farben entsprechen der Konzentration von G-Actin, die nach dem Modell von Mogilner^[228] berechnet wurden (weniger G-Actin und mehr Actinfilamente am vorderen Ende der Zelle). Ein Film der wandernden Zelle ist bei <http://www.math.ucdavis.edu/~mogilner/CompKerat1.mp4> hinterlegt.

zugsrahmen gelöst. Das zentrale Problem ist dann, die Actin-Dynamik auf makromolekulärer Ebene zur makroskopischen Bewegung der Zelle in Beziehung zu setzen. Dies geschieht anhand der Beobachtung, dass die polymerisierenden (+)-Enden der Actinfilamente die Membran vorwärts schieben, während diese einen gewissen elastischen Widerstand leistet. Die Nettobewegung der Zelle ist durch die Balance zwischen diesen beiden Tendenzen bestimmt. Das RD-Modell liefert die Konzentration der (+)-Enden an der Zellmembran ($c_{x=0}$), und die Ausdrücke für den Widerstand F der Membran (pro Einheitslänge) sind unabhängig entwickelt worden.^[234–238] Daher kann die Geschwindigkeit der Zelle in einer analytischen Form durch $V = V(c_{x=0}, F)$ ausgedrückt werden. Nach diesen Vorbereitungen werden die Gleichungen numerisch gelöst, um die Zellbewegung zu reproduzieren und um realistische Parameter abzuleiten, die diesen Prozess beschreiben. Das Modell sagt dann z. B. in Übereinstimmung mit experimentellen Daten voraus, dass die Geschwindigkeit V , mit der die Membranausstülpungen sich schnell bewegender Zellen gebildet werden, im Bereich von Hunderten von nm s^{-1} liegt. Außerdem lässt das Modell vermuten, dass die optimale Dichte von (+)-Enden etwa proportional zum Membranwiderstand ist. Für experimentell abgeschätzte Widerstandswerte von $F = 50\text{--}500 \text{ pN } \mu\text{m}^{-1}$ sagt die Theorie eine optimale Dichte von 25–250 (+)-Enden pro Mikrometer voraus; der experimentelle Wert^[239] liegt bei 240. Dieses Ergebnis lässt sich auch intuitiv erfassen: Wenn es zu wenig (+)-Enden pro Einheitslänge der Membran gibt, reicht die Kraft nicht aus, um die Membran vorwärts zu schieben. Gibt es hingegen zu viele (+)-Enden, wird der Vorrat an monomerem G-Actin erschöpft, und es gibt zu wenig Monomere pro Fi-

lament für die Verlängerung und um die Zelle vorwärts zu bewegen. Diese und andere genaue Vorhersagen des Modells sind zumindest aus unserer Sicht eine bemerkenswerte Leistung der RD-Modellierung.

4.3.2. Erkundung der Umgebung: Filopodien und Membranfalten

Das breite Lamellipodium am Vorderende der Zelle schiebt nicht nur vorwärts, sondern unterstützt auch Membranfalten und nadelähnliche Ausstülpungen, Filopodien genannt,^[75] mit denen die Zelle die äußere Umgebung erfasst. Wichtige Komponenten für Lamellipoden und Filopodien werden durch ein dynamisches Netzwerk aus Actinfilamenten bereitgestellt, wie es im vorigen Abschnitt vorgestellt wurde. Für die Fortbewegung einer Zelle ist der Vorwärtschub durch Actin allerdings nicht ausreichend; vielmehr müssen sich die neu gebildeten Ausstülpungen fest an die Umgebung anheften. Werden solche Adhäsionsstellen^[75] nicht gebildet, polymerisiert Actin in Lamellipodien, bis es rückwärts zusammenbricht und stattdessen in einem unproduktiven Prozess wellenförmige Membranfalten bildet.^[240,241]

Bemerkenswert ist, dass die Bildung der verschiedenen Strukturen an der Zellvorderseite mit einem einzigen RD-Modell erklärt werden kann,^[242–244] das Membrandynamik, Diffusion von Membranlipiden oder -proteinen, die die Actinpolymerisation aktivieren (insgesamt als „Aktivatoren“ bezeichnet), und vortreibende Kräfte aufgrund der G-Actinpolymerisation an der Vorderkante der Zelle umfasst.^[243] Ob diese Vorderkante einer wandernden Zelle Membranfalten bildet oder Filopodien ausstreckt, liegt an der lokalen Krümmung der Membran, die ihrerseits mit der lokalen Konzentration der Aktivatoren zusammenhängt. Diese Kopplung zwischen Konzentration und Krümmung erfordert die Erweiterung der RD-Gleichung für dieses System um zusätzliche Terme. Eine geschickte Wahl ist Gleichung (16).

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c - H \nabla^4 h + \eta \quad (16)$$

c ist die Konzentration der Aktivatoren in der Membran, D ist ihr Diffusionskoeffizient, h misst die normale Ablösung der Membran von einer flachen Bezugsfläche (diese Ablösung folgt einer Integral-Differential-Gleichung der Membrandynamik, Details siehe Lit. [243]) und η beschreibt die Bewegung der Aktivatoren aufgrund zufälliger Ereignisse in der Zelle. Die Bedeutung des entscheidenden, von h abgeleiteten Terms vierter Ordnung lässt sich erfassen, wenn man berücksichtigt, dass die Krümmung κ der Membran mit $\kappa \approx \nabla^2 h$ angenähert werden kann. Damit die Aktivatorproteine in einer Region maximaler oder minimaler Krümmung aggregieren können, müssen sie entlang dem Gradienten der Krümmung wandern. Mathematisch bedeutet das, dass der Fluss \vec{j} dieser Proteine proportional zu $\nabla^3 h$ ist. Zusammen mit dem üblichen diffusiven Fluss \vec{j} ergibt sich $\vec{j} = -D \nabla c + H \nabla^3 h$, und wegen der Massenerhaltung $\partial c / \partial t + \nabla \cdot \vec{j} = 0$ (siehe Abschnitt 2) erhalten wir $\partial c / \partial t = D \nabla^2 c - H \nabla^4 h$.

Die Eleganz dieser Formulierung besteht darin, dass die Dynamik des Systems effektiv nur durch das Vorzeichen des

einen Parameters H bestimmt wird, der die Beziehung zwischen der Membrankrümmung und der Konzentration der Aktivatorproteine widerspiegelt. Ist $H > 0$, tendieren die Aktivatoren zur Aggregation an Stellen maximaler Krümmung (Abbildung 17a). Bei höherer Konzentration von Aktivatoren an diesen Stellen nimmt die Actinpolymerisation

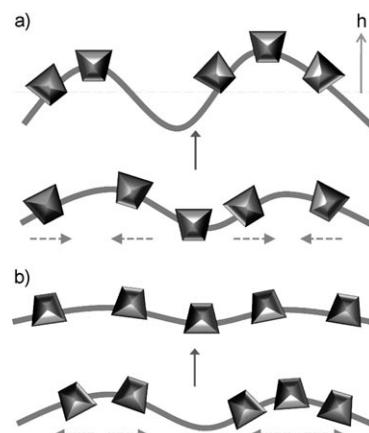


Abbildung 17. Die Bildung von Filopodien und Membranfalten hängt vom Wechselspiel zwischen Membrankrümmung, Diffusion der Aktivatorproteine in der Membran und dem Ausmaß der Actinpolymerisation ab. a) Für $H > 0$ neigen die Aktivatoren zur Aggregation an Stellen mit der stärksten Krümmung. Dort begünstigen sie die Actinpolymerisation und erzeugen stärkere herausdrängende Kräfte an der Membran, was die Krümmung verstärkt und eine weitere Akkumulation der Aktivatoren nach sich zieht (positive Rückkopplung). b) Für $H < 0$ aggregieren die Aktivatoren bevorzugt an den Stellen mit der geringsten Krümmung. Immer, wenn thermische oder zufällige Fluktuationen die Membran biegen, diffundieren die Aktivatoren schnell aus den gekrümmten Regionen und begrenzen damit die Actinpolymerisation. Dadurch flacht sich die Membran wieder ab (negative Rückkopplung). Die gestrichelten Pfeile deuten die Bewegungsrichtung der Aktivatorproteine an.

zu, wodurch dann stärkere vorantreibende Kräfte an der Membran erzeugt werden. Diese Kräfte verstärken ihrerseits die Krümmung und eventuell die Bildung von nadelförmigen Filopodien. Somit zeigt das System eine positive Rückkopplung, sodass die Filopodien autokatalytisch wachsen, bis das Wachstum durch den Membranwiderstand gebremst wird.^[245,246] Ist umgekehrt $H < 0$, tendieren die Aktivatoren zur Aggregation an Stellen minimaler Membrankrümmung (Abbildung 17b). Wenn thermische oder zufällige Fluktuationen die Membran an einer Stelle krümmen, diffundieren die Aktivatoren schnell aus diesem gekrümmten Bereich weg und begrenzen damit die Actinpolymerisation an dieser Stelle, was eine Abnahme der Krümmung verursacht. Dies ist ein Beispiel für eine negative Rückkopplung, mit der das System Störungen der Membranen nivelliert und versucht, sie flach zu halten. Das ständige Tauziehen zwischen Membranverformung und -abflachung verursacht Membranfalten und -wellen, aber keine Filopodien. Es ist allerdings wichtig zu wissen, dass eine Zellmembran typischerweise Regionen mit $H > 0$ und mit $H < 0$ hat, sodass an einigen Stellen Filopodien und an anderen Membranfalten entstehen. Wo diese Regio-

nen lokalisiert sind, ist noch nicht völlig verstanden, doch es gibt experimentelle Hinweise, dass Cdc42-Proteine die Schlüsselrolle im ersten Fall spielen, und Rac-Proteine im zweiten.^[247,248]

Um die Zellumgebung effektiv untersuchen zu können, müssen die Filopodien flexibel und biegsam sein, aber auch steif genug, um sich viele Mikrometer von der Zelle weg vorwölben zu können. Letzteres kann nicht mit Filopodien erreicht werden, die einzelne, nichtvernetzte Actinfilamente enthalten, die sich biegen und leicht unter der Spannung der Zellmembran einknickern.^[249] Um die Steifigkeit zu verbessern, vernetzt ein Protein namens Fascin das neu polymerisierte F-Actin über die Länge der Filopodien in starre Bündel.^[249] Dazu muss Fascin aus dem Zellkörper an die Spitzen der Filopodien transportiert werden. Dies könnte durch Diffusion von Fascin geschehen, wobei dieses, während es durch die Filopodien wandert, irreversibel an die nichtvernetzten Filamente bindet, bis das gesamte Actin der Filopodien gebündelt ist (Abbildung 18a).^[250] Die experimentell bestimmte Wachstumsgeschwindigkeit der Filopodien (typischerweise $2\text{--}3 \mu\text{m min}^{-1}$) ist allerdings zu groß für die entsprechenden Diffusionszeiten [siehe Gleichungen (17)–(19)].^[250] Um diesen Widerspruch zu klären, wurde vermutet, dass wanderndes Fascin reversibel an Actin binden solle ($F +$

$A \rightleftharpoons C$). In der Gleichung steht F für freies Fascin, A für unvernetzte Actinfilamente und C für Filamente, die mit Fascin vernetzt sind. Nach diesem Mechanismus verschiebt Fascin, das aus dem Zellinneren hinzudiffundiert, die lokalen Vernetzungsgleichgewichte innerhalb des Filaments und „schiebt“ das bereits vorhandene und an die Filamente gebundene Fascin in Richtung der Filopodienspitze weiter (Abbildung 18b). Qualitativ betrachtet ähnelt dieser Prozess der Domino-RD, die wir beispielsweise schon bei der lateralen Ausbreitung der Phosphorylierung (LPP, siehe Abschnitt 4.1.1.) gesehen haben. Ein vertrauter Satz von RD-Gleichungen, (17)–(19), beschreibt diesen Prozess.

$$\frac{\partial c_F}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c_F}{\partial x^2} - k_{\text{on}} c_F c_A + k_{\text{off}} c_C \quad (17)$$

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = -k_{\text{on}} c_F c_A + k_{\text{off}} c_C \quad (18)$$

$$\frac{\partial c_C}{\partial t} = k_{\text{on}} c_F c_A - k_{\text{off}} c_C \quad (19)$$

k_{on} und k_{off} sind die Geschwindigkeitskonstanten für das Binden und Ablösen von Fascin an bzw. von den Actinfilamenten; das Filopodium wird als eine lange, eindimensionale Domäne angenähert ($x=0$ ist die Basis, $x=L$ die Spitze des Filopodiums), und Fascin F ist das einzige diffusionsfähige Molekül. Anfangs gibt es nur nichtvernetzte Actinfilamente in den Filopodien ($c_A(t=0)=c_{A0}$) und keine vernetzten Filamente oder Fascin ($c_C(t=0)=c_F(t=0)=0$). Die Konzentration von Fascin an der Basis des Filopodiums wird bei $c_F(x=0, t>0)=c_{F0}$ gehalten, und es gibt keinen Fluss von c_F an der Spitze ($\partial c_F(x=L, t)/\partial x=0$ bei $x=L$). Die Spitze des Filopodiums kann sich frei mit einer Geschwindigkeit von $V=3 \mu\text{m min}^{-1}$ bewegen („moving boundary“-Bedingung). Die numerischen Werte anderer Parameter in diesem Modell wurden experimentell bestimmt:^[250] $k_{\text{on}}=0.8 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ und $k_{\text{off}}=0.12 \text{ s}^{-1}$ ($k_{\text{off}}=0 \text{ s}^{-1}$ gilt für die irreversible Bindung); der Diffusionskoeffizient von Fascin beträgt $D=6 \times 10^{-8} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$. Die Ergebnisse des Modells sind in Abbildung 18c zusammengefasst mit einer Darstellung des prozentualen Anteils vernetzten Actins für kürzere (3 μm) und längere (10 μm) Filopodien. Im ersten Fall können die Fascin-Linker die Spitze des Filopodiums mit reversibler oder irreversibler Bindung erreichen. Bei langen Filopodien dagegen ist eine reversible Fascin-Actin-Bindung auf RD-Basis erforderlich, um sicherzustellen, dass das gesamte Filopodium vernetzt und mechanisch verstärkt wird.

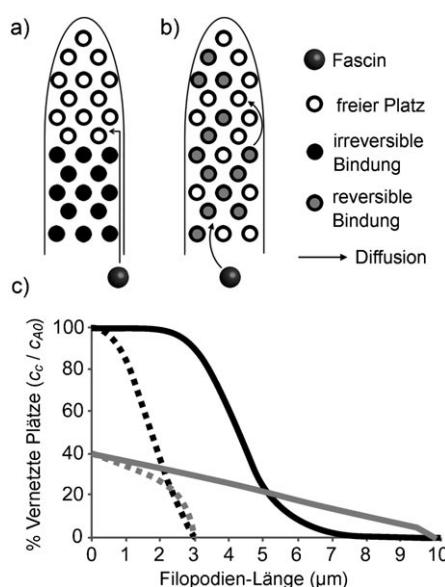


Abbildung 18. Irreversible und reversible Vernetzung von Actinfilamenten durch Fascin. a) Darstellung von Fascin, das in das Filopodium diffundiert und dort Actinfilamente irreversibel bindet und vernetzt. Nach diesem Mechanismus kann Fascin nicht so schnell zur Spitze des Filopodiums gebracht werden, wie das Filopodium wächst. Folglich bleibt die Spitze unvernetzt und ist mechanisch nicht belastbar. b) Bei der reversiblen Fascin-Actin-Bindung ist der Nettotransport von Fascin in das Filopodium schneller. c) Prozentualer Anteil vernetzten Filamente, c_C/c_{A0} , für die Szenarien mit reversibler ($k_{\text{off}}=0.12 \text{ s}^{-1}$, graue Kurven) und irreversibler Bindung ($k_{\text{off}}=0 \text{ s}^{-1}$, schwarze Kurven). Gestrichelte Kurven entsprechen Filopodien, die 3 μm lang sind – in diesem Fall erreicht die Vernetzung die Spitze des Filopodiums mit reversibler oder irreversibler Bindung. Ist das Filopodium jedoch länger (z. B. 10 μm, durchgezogene Kurven), erreicht die Vernetzung nur im Falle reversibler Bindung die Spitze (durchgezogene graue Kurve). Die Daten zur Erzeugung der Graphen stammen aus Lit. [250].

4.3.3. Wahl der Richtung: Gradientenwahrnehmung und Zellpolarisation

Bisher haben wir beschrieben, wie RD einer beweglichen Zelle hilft, ihren Kurs beizubehalten, aber wir haben noch nicht untersucht, warum und wie eine Zelle entscheidet, eine bestimmte Richtung einzuschlagen. Dem liegt die Fähigkeit der Zelle zugrunde, auf externe Gradienten chemischer Lockstoffe zu reagieren. Dies geschieht nach ganz anderen und erheblich komplexeren Mechanismen als bei Prokaryoten (vergleiche Abschnitt 3.1). Beispiele dafür sind schnell

bewegliche eukaryotische Zellen wie neutrophile Granulozyten und Zellen der sozialen Amöbe *Dictyostelium discoideum*, die auch sehr flache Gradienten (um 2–10% Konzentrationsunterschied über die Länge der Zelle) wahrnehmen und sich an ihnen entlang bewegen können.^[251,252] Der Gradient stimuliert die Aktivierung von Zelloberflächenrezeptoren (G-Protein-gekoppelte Rezeptoren), die zunächst gleichmäßig über die Zelloberfläche verteilt sind. Die Rezeptoraktivierung lockt Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) zur Membran, wo sie PI(3,4,5)P₂ zu PI(3,4,5)P₃ (ein Membranphospholipid, das an der 3'-Position der Inosit-Kopfgruppe phosphoryliert ist) phosphoryliert. Während dieses einleitenden Stadiums der Chemotaxis, meist als Gradientenabtastung („gradient sensing“) bezeichnet (Abbildung 19a), bewegen sich PIP₃-bindende Proteine schnell (binnen $t \approx 5\text{--}10\text{ s}$) zu dem Teil der Membran, an dem der Gradient des Lockstoffs am steilsten ist.^[253] (Dieser Teil wird im Folgenden als Vorderseite der Zelle bezeichnet.) Gleichzeitig wandert das Enzym PTEN (phosphatase and tensin homolog enzyme), das PIP₃ abbaut, zum hinteren Ende der Zelle. Daraus resultiert insgesamt die effektive Verstärkung des flachen externen Gradienten, der von der Zelle wahrgenommen wird, in einen steilen Gradienten entsprechend einer „polarisierten“ Verteilung von Membran- und assozierten Proteinen, sodass das vordere und hintere Ende der Zelle biochemisch und funktionell unterscheidbar werden. (Siehe Lit. [254] für eine Beschreibung der an diesem Prozess beteiligten Proteine.) Wichtig ist, dass PIP₃ am vorderen Zellende die Rac-GTPase rekrutiert, die ihrerseits lokal eine Actinpolymerisation und die Ausstülpung der Membran fördert und damit letztlich eine Bewegung der Zelle hin zur höheren Konzentration des Lockstoffs auslöst (Abbildung 19).

Um die Verstärkung eines externen Gradienten und die gleichzeitige scharfe Trennung molekularer Komponenten zwischen vorne und hinten zu erklären, wurde eine Reihe mathematischer Modelle aufgestellt, die das signalgebende und Motilitäts-System im Zellinneren als Reaktions-Diffusions-System beschreiben (siehe die Übersichten in Lit. [253,254]). Die meisten dieser Modelle beruhen auf der Aktivator-Inhibitor-Dynamik nach Turing,^[67–70,255,256] die bereits in Abschnitt 2 vorgestellt wurde. Eine der einfachsten Formulierungen, genannt LEGI (local excitation – global inhibition), schlägt vor, dass die intrazelluläre Antwort auf externe Gradienten durch die gleichzeitige Produktion von zwei sekundären Botenstoffen reguliert wird, deren Konzentrationen proportional zum Anteil der Oberflächenrezeptoren S sind, die durch den Lockstoff an jedem Punkt der Membran aktiviert werden. Diese Botenstoffe sind 1) ein langsam diffundierender signalgebender Aktivator A, der an der Membran erzeugt wird und in seiner Wirkung auf die Membran beschränkt bleibt^[252,257,258] (Beispiele dafür sind G-Proteine und PIP₃), und 2) ein lokal erzeugter Inhibitor I, der schnell frei durch die Zelle diffundiert. (Die Identität von Inhibitoren ist experimentell noch nicht bewiesen und daher strittig; verschiedene mögliche Moleküle und sogar Mechanismen wurden vorgeschlagen.^[254,256,259–263]) Die resultierende Nettoantwort der Zelle wird dann durch die Konzentration des membrangebundenen Moleküls R („response element“) bestimmt, das durch A aktiviert und durch I inaktiviert wird. Die Funktion von R ist es, stromabwärts liegende Komponenten des Motilitätsystems (z. B. Rac) zu aktivieren oder zu kontrollieren. Der in Abbildung 20a gezeigte „Schaltplan“ für das gesamte Modell lässt sich in das System der RD-Gleichungen (20)–(22) übersetzen (siehe auch Lit. [264]).

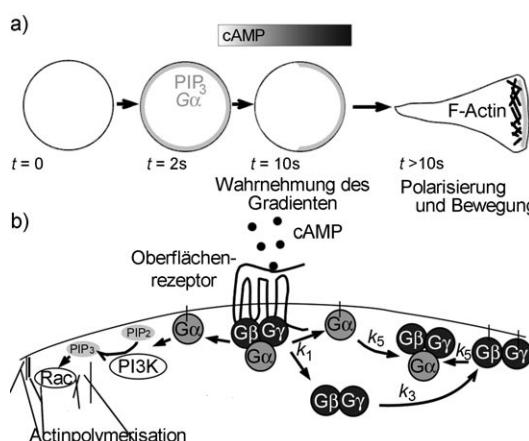


Abbildung 19. Erfassung von Gradienten und Polarisation bei eukaryotischer Chemotaxis. a) Eine eukaryotische Zelle transformiert den flachen Gradienten eines Lockstoffs (hier cyclisches AMP, dunkelgrau bedeutet hohe Konzentration) in eine große Differenz molekularer Komponenten zwischen vorderem und hinterem Zellende. PIP₃ und G-Protein G α sind grau, F-Actin schwarz dargestellt. b) Schema der ausschlaggebenden Signale am vorderen Ende der Zelle, die bei Aktivierung der Oberflächenrezeptoren (hier G-Protein-gekoppelte Rezeptoren) durch einen Lockstoff (cAMP) die Zellpolarisation einleiten. Links wird PI3K an der vorderen Membran gesammelt; dort bildet es PIP₃, das dann RacGTPase anlockt und an dieser Stelle die Actinpolymerisation anstößt. Rechts sind die erwarteten molekularen Bestandteile im balancierten Inaktivierungsmodell dargestellt. Hier entspricht G α dem Aktivator (und auch der Verbindung in der grauen Front in a) und der G β -G γ -Komplex ist der Inhibitor. Eine wichtige Eigenschaft dieses Modells ist, dass G β -G γ mit der Membran assoziiert kann und so zusätzlichen membrangebundenen Inhibitor bildet. Dieser membrangebundene Inhibitor und G α hemmen sich gegenseitig, da sich ein ternärer Komplex aus allen drei G-Proteinen bildet. Die geforderte Beteiligung von G α , G β und G γ ist allerdings noch nicht experimentell nachgewiesen.

k_i ($i = 1\text{--}6$) sind die Geschwindigkeitskonstanten, und D ist der Diffusionskoeffizient von I . Abbildung 20b und Abbildung 20c veranschaulichen die Lösung im Fließgleichgewicht für die Verteilung von I und R entlang der Zellaußengrenze (als Kreis angenähert). Obwohl das Modell die polarisierte Reaktion der Zelle und verschiedene andere experimentelle Beobachtungen reproduziert,^[265] hat es die wesentliche Schwäche, dass die internen Gradienten, die entstehen, nicht steiler sind als der externe Gradient des Lockstoffs – mit

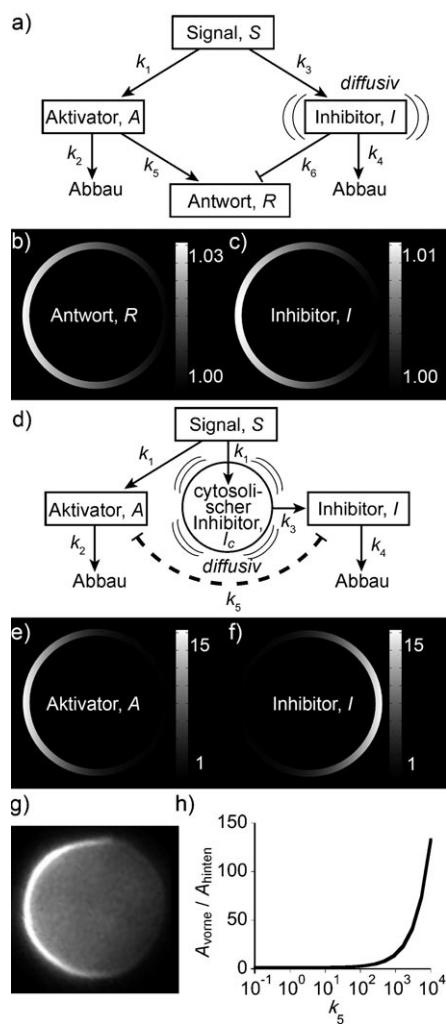


Abbildung 20. Vergleich des Modells mit lokaler Erregung und globaler Inhibition (LEGI) mit dem Modell der balancierten Inaktivierung (BI) bei der Gradientenwahrnehmung. a) Funktionskizze für LEGI. b,c) Fließgleichgewicht, normierte Konzentrationsprofile des Antwortelements R und des Inhibitoren I , nach dem LEGI-Modell berechnet. Die Lösung zeigt, dass R auf den Lockstoff reagiert und die Zelle in dessen Richtung polarisiert (im Bild nach links), obwohl zwischen Vorder- und Rückseite der Zelle nur ein flacher Gradient von R (etwa 1.03 fach) besteht. (Parameter der Rechnung: $D = 1 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$, $k_1 = k_3 = k_5 = 0.1 \text{ s}^{-1}$, $k_2 = k_4 = 0.02 \text{ s}^{-1}$ und $k_6 = 0.02 \text{ m}^2 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.) d) Funktionskizze des BI-Modells. e,f) Konzentrationsprofile des Aktivators A (der in diesem Modell auch die Rolle von R spielt) und der membrangebundenen Form des Inhibitoren I . Weil A und I sich gegenseitig hemmen, sieht man in den Konzentrationsprofilen eine räumliche Trennung und der „Kontrast“ zwischen Vorder- und Rückseite (also die Verstärkung des Gradienten) ist groß. (Parameter der Rechnung: $D = 1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$, $k_1 = 1 \text{ s}^{-1}$, $k_2 = k_4 = 0.2 \text{ s}^{-1}$, $k_3 = 3 \mu\text{m} \text{s}^{-1}$ und $k_5 = 1000 \mu\text{m}^2 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.) g) repräsentative experimentelle Abbildung (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [266]) der Lokalisierung des GFP-markierten PIP3-Bindeproteins in einer durch den Lockstoff stimulierten Umgebung. (Die Zelle ist wegen der Verwendung der Actin depolymerisierenden Substanz Latrunculin A rund; die Reaktion auf Gradienten bleibt allerdings unbeeinflusst.) h) Verhältnis der Konzentrationen von A an der Vorder- und der Rückseite der Zelle, aufgetragen über die Geschwindigkeitskonstante k_5 und berechnet nach dem BI-Modell. Die Kurve verdeutlicht, dass der Reaktionsterm $k_5 AI$, der die gegenseitige Hemmung von A und I berücksichtigt, entscheidend ist für die Verstärkung der externen Gradienten – wenn k_5 klein ist, sieht man keine Verstärkung.

anderen Worten, der beobachtete Verstärkungseffekt wird nicht wiedergegeben.^[266,267]

Um diesen Verstärkungseffekt ebenfalls zu erfassen, wurde LEGI zu dem balancierten Inaktivierungsmodell (BI) erweitert.^[261] Hier ist, wie in LEGI, die Konzentration S der Zelloberflächenrezeptoren proportional zur Konzentration des Lockstoffs an einem bestimmten Membranort. Die aktivierte Rezeptoren kontrollieren ihrerseits (mit der gleichen angenommenen Geschwindigkeitskonstanten k_1) die Produktion des membrangebundenen Aktivators A und des cytosolischen Inhibitoren I_c . Letzterer kann mit dem Diffusionskoeffizienten D frei durch das Cytoplasma diffundieren und kann mit der Konstanten k_3 an die Membran binden und I bilden. Das Reaktionsschema für diese Prozesse findet sich in Abbildung 20d, und es gelten die entsprechenden Gleichungen (23)–(25).

$$\frac{\partial A}{\partial t} = k_1 S - k_2 A - k_5 AI \quad (23)$$

$$\frac{\partial I}{\partial t} = k_3 I_c - k_4 I - k_5 AI \quad (24)$$

$$\frac{\partial I_c}{\partial t} = D \nabla^2 I_c \quad (25)$$

Die Geschwindigkeitskonstanten k_2 und k_4 beschreiben den spontanen, aber langsamem Abbau von A bzw. I und k_5 eine Reaktion, in der A und I sich gegenseitig hemmen. Als Randbedingungen gelten, dass der Fluss von I_c durch die Membran (je Einheitsfläche) gegeben ist durch $-D \partial I_c / \partial n = k_3 I_c - k_1 S$, wobei die linke Seite der Gleichung den Betrag von I_c widerspiegelt, der das Cytoplasma verlässt. (n bezeichnet die auswärts gerichtete Normale auf die Membranoberfläche.) Der erste Term auf der rechten Seite beschreibt die Umwandlung von I_c in I [vergleiche Gl. (24)] und der zweite Term die Bildung von I_c durch aktivierte Rezeptoren S . Anders als im LEGI-Modell spielt A eine Doppelrolle eines Aktivators und eines „response element“, die beide nötig sind, um das stromabwärts liegende Molekül zu beeinflussen.

Löst man die Gleichungen numerisch, sagt das BI-Modell eine stark asymmetrische Verteilung von A und eine Gesamtverstärkung des externen Gradienten um etwa das 100fache voraus, und dies merkwürdigerweise trotz der scheinbaren Ähnlichkeit zwischen den BI- und den LEGI-Gleichungen. Ausschlaggebend ist der zusätzliche Reaktionsterm $-k_5 AI$ in den beiden Gleichungen (23) und (24) [analog zu dem Term $-k_6 IR$, der in der LEGI-Gleichung (22), nicht aber in Gleichung (21) vorkommt]. Dieser Term beschreibt die gegenseitige Beeinflussung und Hemmung zwischen A und I (siehe gestrichelte Linie in Abbildung 20d) und verursacht eine effektive Trennung der beiden Moleküle in verschiedene Regionen der Membran, A nahe dem vorderen, I nahe dem hinteren Ende der Zelle. Entsprechend kann bei effizienter gegenseitiger Beeinflussung (d. h. k_5 ist groß, oberhalb von $100 \mu\text{m}^2 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) das Verhältnis der Konzentrationen von A vorne und hinten bis zu 15 werden. Das ist mehr als zwei Größenordnungen mehr als bei dem ursprünglichen Gradienten des Lockstoffs (nur ca. 5 %

Konzentrationsunterschied über die Zelllänge). Wir sehen hier einmal mehr, wie die Einführung eines einzigen nichtlinearen Terms in ein System von RD-Gleichungen drastische Auswirkungen auf die Vorhersagen des Modells haben kann.

Schließlich ist noch eine Mahnung zur Vorsicht angebracht – obwohl die Ergebnisse, die wir in diesem Abschnitt erläutert haben, sehr gut mit den Experimenten überein-

stimmen, sollte man nicht vergessen, dass die Inhibitoren *I*, die in BI und LEGI eingeführt wurden, noch unbekannt sind (siehe Abbildung 19b). Dies ist sicher ein Schwachpunkt der Modelle, die nichtsdestotrotz einige spannende Ansatzpunkte für weitere Forschungen bieten, denn eine eindeutige Bestätigung der Existenz der Inhibitoren und ihrer Eigenschaften wäre eines jener seltenen Beispiele, bei denen die Theorie

Tabelle 2: Gemeinsame Motive bei intrazellulärer Reaktion-Diffusion.

Beschreibung	Beispiele	Abschnitt	Funktion
Reduktion der Dimensionalität	<ul style="list-style-type: none"> Suchen spezifischer Stellen auf der DNA durch Proteine (3D → 1D)^[121, 123, 125] 	3.3	beschleunigt die Zielsuche oder erhöht die Eindringtiefe in Zellen
Dominoähnliche Stafette	<ul style="list-style-type: none"> Veränderungen der Zellform (3D → 2D)^[74] Kinase-Signalkaskaden^[164] Laterale Fortpflanzung der Rezeptoraktivierung auf der Zellmembran^[166] Calciumwellen^[176, 180, 186, 289] 	4.1.1 4.1.1 4.1.2	beschleunigt die Signalübertragung, verstärkt das Signal
Gradientenerweiterung durch Komplexbildung	<ul style="list-style-type: none"> Ran-GTP-Gradien-ten^[162, 202, 203, 290] 	4.2	erhöht die „Reichweite“ komplexerer Verbindungen
Molekültransport durch reversible Bindung	<ul style="list-style-type: none"> Vernetzung von Actin durch Fascin in Filopodien^[250] 	4.3.2	vernetzt und stärkt die Filopodien
Gerichtete Zellantwort durch Polarisation	<ul style="list-style-type: none"> Wahrnehmung von Gradien-ten^[253, 261, 267] Actin-„Tremmühle“^[228, 229, 291] 	4.3.3 4.3.1	Ausstülpungen und gerichtete Bewegung entlang einem Lockstoff-Gradienten
Räumliche oder zeitliche Oszillationen	<ul style="list-style-type: none"> Min-System^[114, 116, 118] Calcium-Oszillatio-nen^[165, 169, 174, 268] 	3.2 4.1.2	Genaue Positionierung zellulärer Strukturen, frequenzspezifische Reaktionen
Signalverstärkung	<ul style="list-style-type: none"> Wahrnehmung von Gradien-ten^[253, 261, 267] 	4.3.3	registriert Lockstoffe
Positive und negative Rückkopplung	<ul style="list-style-type: none"> Filopodien und Membran-wellen^[242–244] 	4.3.2	schaltet zwischen verschiedenen funktionellen Zuständen um

dem Experiment vorangeht. Es würde auch die Aussagekraft der RD-Modellierungen als einer A-priori- statt einer A-posteriori-Methode zur Untersuchung des Zellverhaltens bestätigen.

5. Schlussfolgerungen und Ausblick

In diesem Aufsatz haben wir versucht zu verdeutlichen, dass Reaktions-Diffusions-Prozesse ein wichtiger Bestandteil von Transport und Kontrolle in der Zelle sind. Einer der Gründe für ihre Überlegenheit ist, dass sie energetisch günstiger sind als ein aktiver Transport. Daher setzen nicht nur die kleinen und einfachen Prokaryoten RD-Prozesse ein, sondern auch die größeren und komplexeren Eukaryoten. Andernfalls wären diese Zellen schlicht nicht in der Lage, die benötigte Energie aufzubringen, um ihre Bestandteile durch aktiven Transport zu bewegen. Natürlich sind Prozesse auf Diffusionsbasis langsam, besonders, wenn die zu überbrückenden Distanzen größer werden. Um Abhilfe zu schaffen, haben Zellen verschiedene RD-„Motive“ oder RD-„Mechanismen“ entwickelt, in denen durch die geschickte Kopplung der Diffusion mit der Reaktion und/oder der Dimensionalität des Systems der Gesamtprozess effizienter und schneller wird. Wir haben mehrere solcher Motive beschrieben: Reduktion der Dimensionalität (z.B. bei der Auffindung spezifischer DNA-Stellen durch Proteine und in Signalkaskaden), dominoähnliche Aktivierungsmuster (z.B. bei Kinase-Signalgebungen und der lateralen Ausbreitung der Phosphorylierung), Erweiterung der Reichweite von Gradienten durch Komplexbildung (z.B. bei der Ran-GTP-Komplexbildung bei der Organisation der Kernspindel) oder die Verstärkung von Gradienten durch Aktivator-Inhibitor-Kopplung (z.B. bei der Zellpolarisierung). Diese und einige andere Motive sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Weil wir annehmen, dass die Natur im Verlauf der Evolution diese Motive für eine optimale Funktion (mit Blick auf Transportgeschwindigkeit, Signalstärke usw.) selektiert hat, glauben wir, dass sie auch eine Blaupause für die Konstruktion künstlicher künstlicher RD-Systeme darstellen können.^[268] Auch wenn die Systemchemie^[29–33] noch in den Kinderschuhen steckt, wird sie – zumindest unserer Meinung nach – bald ein Kerngebiet der chemischen Forschung sein.

Um Systeme konzenterter Reaktionen zu verstehen, erscheint die Beteiligung wandernder Chemikalien nicht nur eine logische Fortsetzung des gegenwärtigen „Eine-Reaktion-in-einem-Topf“-Dogmas, sondern sie ist auch ein Weg zu chemischen Systemen, die sich an Umgebungsveränderungen anpassen können, die Signale empfangen und verstärken, die sich selbst antreiben, sich selbst heilen oder sich vielleicht sogar selbst replizieren. Bei dieser Suche nach „künstlichen Zellen“ können die natürlichen zellulären RD-Systeme als Leitbild wirken. Und obwohl die Entwicklung solcher Systeme keine einfache Aufgabe sein wird, wird sie sicher möglich sein. Hinweise darauf sind kürzlich entwickelte allgemeine Schemata für das rationale Design von RD-Systemen, darunter auch Turing-Muster^[269–273] und periodische Fällungsreaktionen.^[274]

Wir schließen mit einigen allgemeinen Beobachtungen, die wir machten, während wir das Manuskript verfassten. Die erste ist, dass Diffusion mitnichten der langweilige Prozess ist, der meist mit dem Verschmieren von Gradienten und der Verschwendungen chemischer Energie assoziiert wird. Wird sie sauber mit chemischen Reaktionen synchronisiert, kann sie ein zweckmäßiges und leistungsfähiges Werkzeug werden, mit dem kleine Strukturen transportiert, positioniert und kontrolliert werden können. Dann kann die Diffusion überraschend präzise sein – hier sei an das Min-System erinnert, bei dem RD den Z-Ring mit einer Präzision von ca. 1% der Zelllänge (im Zehntelnanometer-Bereich!) positioniert. Der zweite, damit verwandte Punkt ist, dass wir gerade erst beginnen, die erstaunlichen Fähigkeiten und den Reichtum zellulärer Phänomene zu erfassen, die auf RD zurückgehen. Während die makroskopischen RD-Systeme wie Turing- oder BZ-Muster schon seit Jahrzehnten untersucht werden, sind viele Publikationen über zelluläre RD, die wir in diesem Aufsatz zitiert haben, noch sehr aktuell; wir sehen also, dass dieses Forschungsgebiet sich rasch entwickelt. Mit der Verbesserung der Auflösung von Mikroskopietechniken für das Zellinnere^[12–17,275] kann man erwarten, dass immer mehr Experimentatoren den Weg von Molekülen innerhalb der Zelle nachverfolgen können, sodass wahrscheinlich weitere RD-Prozesse entdeckt werden. Es sollte jedoch betont werden, dass diese Untersuchungen erst dann Wissenschaft werden (und nicht nur, nach Lord Rutherford, eine Form von „Briefmarkensammeln“^[276]), wenn die Experimente mit einer entsprechenden Theorie untermauert werden. Die RD ist einfach zu komplex und widerspricht zu sehr der Intuition, als dass sie ohne mathematisches Modell verstanden werden kann. Zum Glück folgt die Konstruktion und Lösung von RD-Gleichungen festgelegten Regeln, von denen wir einige in diesem Aufsatz dargelegt haben. Mehr Information über die mathematischen Grundlagen von RD findet sich in aktuellen Monographien.^[64,71,277] Die weitere Reise in das Reich der zellulären RD-Systeme wird eine Kombination von Methoden verschiedener Disziplinen (Chemie, Zellbiologie, Bildgebung, Mathematik, Physik) erfordern. Sie muss nicht unbedingt einfach sein, aber sie verspricht mit Sicherheit, ein großes Abenteuer zu werden.

Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health/National Cancer Institute (NIH/NCI) unter dem Kennzeichen #1U54A119341-01 und vom Center of Cancer Nanotechnology Excellence (CCNE) an der Northwestern University, NIH-Projekt #1R21A137707-01 (beide an B.A.G.) gefördert.

Eingegangen am 2. Oktober 2009
Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

-
- [1] B. N. Kholodenko, W. Kolch, *Cell* **2008**, *133*, 566.
 - [2] O. Shimomura, F. H. Johnson, Y. Saiga, *J. Cell. Comp. Physiol.* **1962**, *59*, 223.
 - [3] M. Chalfie, Y. Tu, G. Euskirchen, W. W. Ward, D. C. Prasher, *Science* **1994**, *263*, 802.
 - [4] R. Heim, D. C. Prasher, R. Y. Tsien, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 12501.

- [5] O. Shimomura, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 5698; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5590.
- [6] M. Chalfie, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 5711; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5603.
- [7] R. Y. Tsien, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 5721; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5612.
- [8] E. A. Jares-Erijman, T. M. Jovin, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1387.
- [9] P. Atkins, J. de Paula, *Physical Chemistry*, 7. Aufl., W. H. Freeman, New York, **2001**.
- [10] I. Levine, *Physical Chemistry*, 6. Aufl., McGraw-Hill, New York, **2008**.
- [11] D. A. McQuarrie, J. D. Simon, *Physical Chemistry: A Molecular Approach*, University Science Books, Sausalito, **1997**.
- [12] B. Huang, W. Q. Wang, M. Bates, X. W. Zhuang, *Science* **2008**, *319*, 810.
- [13] M. J. Rust, M. Bates, X. W. Zhuang, *Nat. Methods* **2006**, *3*, 793.
- [14] S. W. Hell, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1347.
- [15] S. W. Hell, *Science* **2007**, *316*, 1153.
- [16] E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz, H. F. Hess, *Science* **2006**, *313*, 1642.
- [17] M. G. L. Gustafsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 13081.
- [18] N. J. Durr, T. Larson, D. K. Smith, B. A. Korgel, K. Sokolov, A. Ben-Yakar, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 941.
- [19] C. Sönnichsen, A. P. Alivisatos, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 301.
- [20] H. F. Wang, T. B. Huff, D. A. Zweifel, W. He, P. S. Low, A. Wei, J. X. Cheng, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 15752.
- [21] J. Chen, et al., *Nano Lett.* **2005**, *5*, 473.
- [22] J. Y. Chen, et al., *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 2255.
- [23] M. F. Kircher, U. Mahmood, R. S. King, R. Weissleder, L. Josephson, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 8122.
- [24] J. W. M. Bulte, D. L. Kraitchman, *NMR Biomed.* **2004**, *17*, 484.
- [25] M. Zhao, D. A. Beauregard, L. Loizou, B. Davletov, K. M. Brindle, *Nat. Med.* **2001**, *7*, 1241.
- [26] W. C. W. Chan, D. J. Maxwell, X. H. Gao, R. E. Bailey, M. Y. Han, S. M. Nie, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, *13*, 40.
- [27] P. Mitchell, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 1013.
- [28] E. Klarreich, *Nature* **2001**, *413*, 450.
- [29] R. F. Ludlow, S. Otto, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 101.
- [30] N. Wagner, G. Ashkenasy, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 1765.
- [31] Z. Dadon, N. Wagner, G. Ashkenasy, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6221; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6128.
- [32] A. Hjelmfelt, E. D. Weinberger, J. Ross, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10983.
- [33] A. Arkin, J. Ross, *Biophys. J.* **1994**, *67*, 560.
- [34] H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaira, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, S. L. Zipursky, J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 5. Aufl., W. H. Freeman, New York, **2004**.
- [35] a) J. D. Murray, *Mathematical Biology: An Introduction*, Band 1, 3. Aufl., Springer, New York, **2002**; b) J. D. Murray, *Mathematical Biology: Spatial Models and Biomedical Applications*, Band 2, 3. Aufl., Springer, New York, **2003**.
- [36] a) B. A. Grzybowski, K. J. M. Bishop, C. J. Campbell, M. Fialkowski, S. K. Smoukov, *Soft Matter* **2005**, *1*, 114; b) N. F. Britton, *Reaction-Diffusion Equations and Their Applications to Biology*, Academic Press, London, **1986**; c) P. Gray, S. K. Scott, *Chemical Oscillations and Instabilities: Non-linear Chemical Kinetics*, Oxford University Press, New York, **1990**; d) G. Nicolis, I. Prigogine, *Self-organization in Nonequilibrium Systems*, John Wiley & Sons, New York, **1977**.
- [37] A. N. Zaikin, A. M. Zhabotinsky, *Nature* **1970**, *225*, 535.
- [38] R. J. Field, M. Burger, *Oscillations and Traveling Waves in Chemical Systems*, Wiley, New York, **1985**.
- [39] a) K. J. M. Bishop, B. A. Grzybowski, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *97*, 128702; b) K. J. M. Bishop, M. Fialkowski, B. A. Grzybowski, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15943.
- [40] P. M. Wood, J. Ross, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 1924.
- [41] A. Hanna, A. Saul, K. Showalter, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3838.
- [42] P. De Kepper, I. R. Epstein, K. Kustin, M. Orban, *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 170.
- [43] J. Ross, S. C. Muller, C. Vidal, *Science* **1988**, *240*, 460.
- [44] V. K. Vanag, L. F. Yang, M. Dolnik, A. M. Zhabotinsky, I. R. Epstein, *Nature* **2000**, *406*, 389.
- [45] K. J. Lee, W. D. McCormick, Q. Ouyang, H. L. Swinney, *Science* **1993**, *261*, 192.
- [46] G. Ertl, *Science* **1991**, *254*, 1750.
- [47] J. Wolff, A. G. Papathanasiou, I. G. Kevrekidis, H. H. Rotermund, G. Ertl, *Science* **2001**, *294*, 134.
- [48] R. E. Liesegang, *Naturwiss. Wochenschr.* **1896**, *10*, 353.
- [49] B. Chopard, P. Luthi, M. Droz, *Phys. Rev. Lett.* **1994**, *72*, 1384.
- [50] a) M. Fialkowski, A. Bitner, B. A. Grzybowski, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 018303; b) I. T. Bensemann, M. Fialkowski, B. A. Grzybowski, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 2774; c) I. Lagzi, B. Kowalczyk, B. A. Grzybowski, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 58.
- [51] M. Flicker, J. Ross, *J. Chem. Phys.* **1974**, *60*, 3458.
- [52] S. C. Müller, J. Ross, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 7997.
- [53] E. Ammelt, D. Schweng, H. G. Purwins, *Phys. Lett. A* **1993**, *179*, 348.
- [54] E. L. Gurevich, A. L. Zanin, A. S. Moskalenko, H. G. Purwins, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *91*, 154501.
- [55] P. J. Heaney, A. M. Davis, *Science* **1995**, *269*, 1562.
- [56] M. B. Short, J. C. Baygents, J. W. Beck, D. A. Stone, R. S. Toomey, R. E. Goldstein, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 018501.
- [57] *Glossary of Geology*, 3. Aufl., American Geological Institute, Alexandria, **1987**.
- [58] E. O. Budrene, H. C. Berg, *Nature* **1991**, *349*, 630.
- [59] E. O. Budrene, H. C. Berg, *Nature* **1995**, *376*, 49.
- [60] B. Hess, *Naturwissenschaften* **2000**, *87*, 199.
- [61] A. T. Winfree, *The Geometry of Biological Time*, 2. Aufl., Springer, New York, **2001**.
- [62] S. Kondo, R. Asai, *Nature* **1995**, *376*, 765.
- [63] T. X. Jiang, R. B. Widlitz, W. M. Shen, P. Will, D. Y. Wu, C. M. Lin, H. S. Jung, C. M. Chuong, *Int. J. Dev. Biol.* **2004**, *48*, 117.
- [64] W. M. Deen, *Analysis of Transport Phenomena*, Oxford University Press, New York, **1998**.
- [65] N. G. Van Kampen, *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*, Elsevier Science Publishers, New York, **1981**.
- [66] R. Metzler, J. Klafter, *Phys. Rep.* **2000**, *339*, 1.
- [67] A. M. Turing, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1952**, *237*, 37.
- [68] T. Miura, T. Matsumoto, *Proc. R. Soc. London* **2000**, *267*, 1185.
- [69] T. Miura, *Insectes Soc.* **2001**, *48*, 216.
- [70] F. Siegert, C. J. Weijer, *Curr. Biol.* **1995**, *5*, 937.
- [71] B. A. Grzybowski, *Chemistry in Motion: Reaction-Diffusion Systems for Micro- and Nanotechnology*, Wiley, Chichester, UK, **2009**.
- [72] M. B. Elowitz, M. G. Surette, P. E. Wolf, J. B. Stock, S. Leibler, *J. Bacteriol.* **1999**, *181*, 197.
- [73] R. Swaminathan, C. P. Hoang, A. S. Verkman, *Biophys. J.* **1997**, *72*, 1900.
- [74] J. Meyers, J. Craig, D. J. Odde, *Curr. Biol.* **2006**, *16*, 1685.
- [75] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Molecular Biology of the Cell*, 4. Aufl., Garland Science, New York, **2002**.
- [76] J. Howard, *Annu. Rev. Physiol.* **1996**, *58*, 703.
- [77] J. S. Lee, M. S. Mayes, M. H. Stromer, C. G. Scanes, S. Jeftinija, L. L. Anderson, *Exp. Biol. Med.* **2004**, *229*, 632.
- [78] I. Wacker, C. Kaether, A. Kromer, A. Migala, W. Almers, H. H. Gerdes, *J. Cell Sci.* **1997**, *110*, 1453.

- [79] O. Culic, M. L. H. Gruwel, J. Schrader, *Am. J. Physiol.* **1997**, 273, C205.
- [80] S. Ghaemmaghami, W. Huh, K. Bower, R. W. Howson, A. Belle, N. Dephoure, E. K. O'Shea, J. S. Weissman, *Nature* **2003**, 425, 737.
- [81] P. Giannakou, D. L. Sackett, Y. Ward, K. R. Webster, M. V. Blagosklonny, T. Fojo, *Nat. Cell Biol.* **2000**, 2, 709.
- [82] V. Prahlad, B. T. Helfand, G. M. Langford, R. D. Vale, R. D. Goldman, *J. Cell Sci.* **2000**, 113, 3939.
- [83] Y. Mimori-Kiyosue, N. Shiina, S. Tsukita, *J. Cell Biol.* **2000**, 148, 505.
- [84] S. Y. Trostel, D. L. Sackett, T. Fojo, *Cell Cycle* **2006**, 5, 2253.
- [85] E. C. Garner, C. S. Campbell, R. D. Mullins, *Science* **2004**, 306, 1021.
- [86] E. C. Garner, C. S. Campbell, D. B. Weibel, R. D. Mullins, *Science* **2007**, 315, 1270.
- [87] D. Popp, A. Yamamoto, M. Iwasa, A. Narita, K. Maeda, Y. Maeda, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2007**, 353, 109.
- [88] J. Møller-Jensen, J. Borch, M. Dam, R. B. Jensen, P. Roepstorff, K. Gerdes, *Mol. Cell* **2003**, 12, 1477.
- [89] M. A. Fogel, M. K. Waldor, *Genes Dev.* **2006**, 20, 3269.
- [90] J. Møller-Jensen, R. B. Jensen, K. Gerdes, *Trends Microbiol.* **2000**, 8, 313.
- [91] D. A. Mohl, J. W. Gober, *Cell* **1997**, 88, 675.
- [92] K. Gerdes, J. Møller-Jensen, R. B. Jensen, *Mol. Microbiol.* **2000**, 37, 455.
- [93] A. M. Stock, V. L. Robinson, P. N. Goudreau, *Annu. Rev. Biochem.* **2000**, 69, 183.
- [94] J. A. Hoch, *Curr. Opin. Microbiol.* **2000**, 3, 165.
- [95] H. C. Berg, E. M. Purcell, *Biophys. J.* **1977**, 20, 193.
- [96] G. H. Wadhams, J. P. Armitage, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, 5, 1024.
- [97] J. R. Maddock, L. Shapiro, *Science* **1993**, 259, 1717.
- [98] S. Khan, J. L. Spudich, J. A. McCray, D. R. Trentham, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 9757.
- [99] J. E. Segall, M. D. Manson, H. C. Berg, *Nature* **1982**, 296, 855.
- [100] J. E. Segall, A. Ishihara, H. C. Berg, *J. Bacteriol.* **1985**, 161, 51.
- [101] C. J. Camacho, S. R. Kimura, C. DeLisi, S. Vajda, *Biophys. J.* **2000**, 78, 1094.
- [102] T. A. J. Duke, N. Le Novere, D. Bray, *J. Mol. Biol.* **2001**, 308, 541.
- [103] P. Cluzel, M. Surette, S. Leibler, *Science* **2000**, 287, 1652.
- [104] K. Lipkow, S. S. Andrews, D. Bray, *J. Bacteriol.* **2005**, 187, 45.
- [105] U. Alon, M. G. Surette, N. Barkai, S. Leibler, *Nature* **1999**, 397, 168.
- [106] G. Almogy, L. Stone, N. Ben-Tal, *Biophys. J.* **2001**, 81, 3016.
- [107] A. Vaknin, H. C. Berg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 17072.
- [108] E. Bi, J. Lutkenhaus, *Nature* **1991**, 354, 161.
- [109] F. J. Trueba, *Arch. Microbiol.* **1982**, 131, 55.
- [110] M. Howard, A. D. Rutenberg, S. de Vet, *Phys. Rev. Lett.* **2001**, 87, 278102.
- [111] H. Meinhardt, P. A. J. de Boer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 14202.
- [112] K. Kruse, *Biophys. J.* **2002**, 82, 618.
- [113] M. Howard, A. D. Rutenberg, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, 90, 128102.
- [114] K. C. Huang, Y. Meir, N. S. Wingreen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 12724.
- [115] R. V. Kulkarni, K. C. Huang, M. Kloster, N. S. Wingreen, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, 93, 228103.
- [116] D. M. Raskin, P. A. J. de Boer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 4971.
- [117] H. Zhou, J. Lutkenhaus, *J. Bacteriol.* **2003**, 185, 4326.
- [118] J. Lutkenhaus, *Annu. Rev. Biochem.* **2007**, 76, 539.
- [119] L. Romberg, P. A. Levin, *Annu. Rev. Microbiol.* **2003**, 57, 125.
- [120] Das im Text diskutierte Modell stützt sich ausschließlich auf (in vitro) experimentell bestätigte molekulare Wechselwirkungen.

Neben der Positionierung des FtsZ-Rings reproduziert dieses Modell auch verschiedene andere experimentelle Beobachtungen, darunter die Oszillationsperiode von ungefähr 40 s, zebrastreifenartige Oszillationen in filamentösen Zellen oder Oszillationen in stäbchenförmigen und runden Zellen (Lit. [114] und K. C. Huang, N. S. Wingreen, *Phys. Biol.* **2004**, 1, 229). In früheren Modellen des Min-Systems wurden oft unrealistische Annahmen gemacht wie kontinuierliche Synthese und Abbau von Min-Proteinen (Lit. [111]), obwohl experimentell bewiesen worden war, dass ein Blockieren der Synthese die Oszillationen nicht beeinflusst (Lit. [116]). Neuere Modelle gehen davon aus, dass die Menge an MinD- und MinE-Protein konstant bleibt (diese Annahme gilt auch für das Modell im Text), und sie versuchen auch eine detailliertere Beschreibung der zugrundeliegenden molekularen Wechselwirkungen einschließlich stochastischer Effekte (z.B. R. A. Kerr, H. Levine, T. J. Sejnowski, W. J. Rappel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 347, und N. Pavlin, H. C. Paljetak, V. Krstic, *Phys. Rev. E* **2006**, 73, 021904). Der Leser sei auch auf einen ausgezeichneten Übersichtsartikel verwiesen (K. Kruse, M. Howard, W. Margolin, *Mol. Microbiol.* **2007**, 63, 1279), der diese und andere Modelle vergleicht. Interessanterweise wurde auch diskutiert, dass die Positionierung des FtsZ-Rings Min-unabhängig sei und auf die „Nucleoid-Okklusion“ zurückgehe (C. L. Woldringh, E. Mulder, J. A. C. Valkenburg, F. B. Wientjes, A. Zaritsky, N. Nanninga, *Res. Microbiol.* **1990**, 141, 39). Experimente mit kernlosen Zellen (die also keine Chromosomen besitzen) ergaben, dass sich der FtsZ-Ring dennoch in der Mitte der Zelle bildet (Q. Sun, X. C. Yu, W. Margolin, *Mol. Microbiol.* **1998**, 29, 491). Daher scheint dieser Mechanismus nur für Zellen ohne Min-System bedeutsam zu sein (W. Margolin, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2005**, 6, 862).

[121] T. Hu, B. I. Shklovskii, *Phys. Rev. E* **2006**, 74, 021903.

[122] M. Ptashne, A. Gann, *Essays Biochem.* **2001**, 37, 1.

[123] K. V. Klenin, H. Merlitz, J. Langowski, C. X. Wu, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, 96, 018104.

[124] P. H. von Hippel, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2007**, 36, 79.

[125] J. Widom, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 16909.

[126] A. D. Riggs, S. Bourgeois, M. Cohn, *J. Mol. Biol.* **1970**, 53, 401.

[127] S. E. Halford, J. F. Marko, *Nucleic Acids Res.* **2004**, 32, 3040.

[128] Y. M. Wang, R. H. Austin, E. C. Cox, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, 97, 048302.

[129] D. M. Gowers, G. G. Wilson, S. E. Halford, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 15883.

[130] B. van den Broek, M. A. Lomholt, S. M. J. Kalisch, R. Metzler, G. J. L. Wuite, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105, 15738.

[131] C. Bustamante, M. Guthold, X. S. Zhu, G. L. Yang, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 16665.

[132] N. Shimamoto, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 15293.

[133] O. Givaty, Y. Levy, *J. Mol. Biol.* **2009**, 385, 1087.

[134] Eine interessante Variante des Sprungmechanismus wurde bei Proteinen mit mehr als einer DNA-Bindedomäne beobachtet (S. E. Halford, D. M. Gowers, R. B. Sessions, *Nat. Struct. Biol.* **2000**, 7, 705), so bei dem V-förmigen Lac-Repressor, der über beide Enden an die DNA binden und dadurch zwei entfernte DNA-Orte zusammenbringen kann. Dann können thermische Fluktuationen den Zwischensegmenttransfer des Proteins von einem DNA-Segment zu einem anderen vermitteln (Lit. [136]). Ähnlich wie das Springen ermöglicht es dieser Mechanismus dem Protein, sich über Hunderte von Basenpaaren hinweg zu bewegen. Während beim Springen das Protein jedoch von der DNA abdissoziiert, bleibt es beim Zwischensegmenttransfer an die DNA gebunden. Der Zwischensegmenttransfer wurde direkt mit Rasterkraftmikroskopie (SFM) an der *E. coli*-RNA-Polymerase auf DNA beobachtet (Lit. [131]); das Gleiche

- wurde auch für den lac-Repressor vermutet (M. G. Fried, D. M. Crothers, *J. Mol. Biol.* **1984**, *172*, 263).
- [135] R. H. Porecha, J. T. Stivers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 10791.
- [136] O. G. Berg, R. B. Winter, P. H. Von Hippel, *Biochemistry* **1981**, *20*, 6929.
- [137] G. M. Viswanathan, S. V. Buldyrev, S. Havlin, M. G. E. da Luz, E. P. Raposo, H. E. Stanley, *Nature* **1999**, *401*, 911.
- [138] F. Bartumeus, M. G. E. Da Luz, G. M. Viswanathan, J. Catalan, *Ecology* **2005**, *86*, 3078.
- [139] G. M. Viswanathan, V. Afanasyev, S. V. Buldyrev, E. J. Murphy, P. A. Prince, H. E. Stanley, *Nature* **1996**, *381*, 413.
- [140] F. Bartumeus, F. Peters, S. Pueyo, C. Marrase, J. Catalan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 12771.
- [141] M. A. Lomholt, T. Ambjornsson, R. Metzler, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *95*, 260603.
- [142] M. D. Barkley, *Biochemistry* **1981**, *20*, 3833.
- [143] B. F. Lang, M. W. Gray, G. Burger, *Annu. Rev. Genet.* **1999**, *33*, 351.
- [144] W. Martin, B. Stoebe, V. Goremykin, S. Hansmann, M. Hasegawa, K. V. Kowallik, *Nature* **1998**, *393*, 162.
- [145] L. Margulis, J. F. Stoltz, *Adv. Space Res.* **1984**, *4*, 195.
- [146] C. de Duve, *Sci. Am.* **1996**, *274*, 50.
- [147] C. de Duve, *Nat. Rev. Genet.* **2007**, *8*, 395.
- [148] D. H. Schott, R. N. Collins, A. Bretscher, *J. Cell Biol.* **2002**, *156*, 35.
- [149] E. Mohr, *Prog. Neurobiol.* **1999**, *57*, 507.
- [150] A. Bashirullah, R. L. Cooperstock, H. D. Lipshitz, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 335.
- [151] P. Lasko, *FASEB J.* **1999**, *13*, 421.
- [152] K. L. Mowry, C. A. Cote, *FASEB J.* **1999**, *13*, 435.
- [153] G. J. Bassell, Y. Oleynikov, R. H. Singer, *FASEB J.* **1999**, *13*, 447.
- [154] J. H. Carson, S. J. Kwon, E. Barbarese, *Curr. Opin. Neurobiol.* **1998**, *8*, 607.
- [155] J. O. Deshler, M. I. Highett, T. Abramson, B. J. Schnapp, *Curr. Biol.* **1998**, *8*, 489.
- [156] M. L. King, Y. Zhou, M. Bubunenko, *Bioessays* **1999**, *21*, 546.
- [157] O. Steward, *Neuron* **1997**, *18*, 9.
- [158] P. A. Takizawa, A. Sil, J. R. Swedlow, I. Herskowitz, R. D. Vale, *Nature* **1997**, *389*, 90.
- [159] Ein anderes Motiv, das oft in Signalwegen vorkommt, besteht aus zwei Proteinformen: einer aktiven, gebunden an GTP, und einer inaktiven, gebunden an GDP. Dieses umschaltbare System wird von zwei Proteintypen mit „entgegengesetzten“ Aktivitäten kontrolliert: vom Guaninaustauschfaktor (guanine exchange factor, GEF), der den Austausch von GDP gegen GTP katalysiert, und vom GTPase aktivernden Protein (GAP), das die Hydrolyse von GTP zu GDP induziert.
- [160] I. A. Yudushkin, A. Schleifenbaum, A. Kinkhabwala, B. G. Neel, C. Schultz, P. I. H. Bastiaens, *Science* **2007**, *315*, 115.
- [161] G. C. Brown, B. N. Kholodenko, *FEBS Lett.* **1999**, *457*, 452.
- [162] P. Bastiaens, M. Caudron, P. Niethammer, E. Karsenti, *Trends Cell Biol.* **2006**, *16*, 125.
- [163] B. N. Kholodenko, *Trends Cell Biol.* **2002**, *12*, 173.
- [164] B. N. Kholodenko, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 165.
- [165] N. I. Markevich, M. A. Tsyanov, J. B. Hoek, B. N. Kholodenko, *Mol. Syst. Biol.* **2006**, *2*, 8.
- [166] C. Tischer, P. I. H. Bastiaens, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 971.
- [167] S. R. Hubbard, M. Mohammadi, J. Schlessinger, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 11987.
- [168] P. J. Verveer, F. S. Wouters, A. R. Reynolds, P. I. H. Bastiaens, *Science* **2000**, *290*, 1567.
- [169] G. Carpenter, K. J. Lembach, M. M. Morrison, S. Cohen, *J. Biol. Chem.* **1975**, *250*, 4297.
- [170] D. Cuvelier, M. Thery, Y. S. Chu, S. Dufour, J. P. Thiery, M. Bornens, P. Nasoy, L. Mahadevan, *Curr. Biol.* **2007**, *17*, 694.
- [171] J. Lechleiter, S. Girard, E. Peralta, D. Clapham, *Science* **1991**, *252*, 123.
- [172] M. J. Berridge, *Nature* **1993**, *361*, 315.
- [173] M. J. Berridge, *J. Exp. Biol.* **1997**, *200*, 315.
- [174] S. A. Stricker, *Dev. Biol.* **1995**, *170*, 496.
- [175] R. A. Fontanilla, R. Nuccitelli, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 2079.
- [176] T. Meyer, L. Stryer, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1991**, *20*, 153.
- [177] J. D. Lechleiter, D. E. Clapham, *Cell* **1992**, *69*, 283.
- [178] S. H. Strogatz, *Nonlinear Dynamics and Chaos: With Applications to Physics, Biology, Chemistry, and Engineering*, Perseus Books Publishing, Cambridge, **1994**.
- [179] M. J. Berridge, M. D. Bootman, P. Lipp, *Nature* **1998**, *395*, 645.
- [180] J. Wagner, Y. X. Li, J. Pearson, J. Keizer, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 2088.
- [181] Y. H. Tang, J. L. Stephenson, H. G. Othmer, *Biophys. J.* **1996**, *70*, 246.
- [182] I. Bezprozvanny, J. Watras, B. E. Ehrlich, *Nature* **1991**, *351*, 751.
- [183] J. B. Parys, S. W. Sernett, S. Delisle, P. M. Snyder, M. J. Welsh, K. P. Campbell, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 18776.
- [184] A. Atri, J. Amundson, D. Clapham, J. Sneyd, *Biophys. J.* **1993**, *65*, 1727.
- [185] H. Kasai, G. J. Augustine, *Nature* **1990**, *348*, 735.
- [186] G. Dupont, L. Combettes, L. Leybaert, *Int. Rev. Cytol.* **2007**, *261*, 193.
- [187] R. E. Dolmetsch, K. L. Xu, R. S. Lewis, *Nature* **1998**, *392*, 933.
- [188] R. S. Lewis, *Biochem. Soc. Trans.* **2003**, *31*, 925.
- [189] M. J. Berridge, *Nature* **1997**, *386*, 759.
- [190] P. De Koninck, H. Schulman, *Science* **1998**, *279*, 227.
- [191] N. I. Markevich, J. B. Hoek, B. N. Kholodenko, *J. Cell Biol.* **2004**, *164*, 353.
- [192] O. Slaby, D. Lebiedz, *Biophys. J.* **2009**, *96*, 417.
- [193] L. F. Olsen, U. Kummer, A. L. Kindzelskii, H. R. Petty, *Biophys. J.* **2003**, *84*, 69.
- [194] A. Hunding, *J. Biol. Phys.* **2004**, *30*, 325.
- [195] M. Kirschner, T. Mitchison, *Cell* **1986**, *45*, 329.
- [196] T. E. Holy, S. Leibler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 5682.
- [197] R. Wollman, E. N. Cytrynbaum, J. T. Jones, T. Meyer, J. M. Scholey, A. Mogilner, *Curr. Biol.* **2005**, *15*, 828.
- [198] G. C. Rogers, N. M. Rusan, M. Peifer, S. L. Rogers, *Mol. Biol. Cell* **2008**, *19*, 3163.
- [199] E. Karsenti, I. Vernos, *Science* **2001**, *294*, 543.
- [200] A. Khodjakov, R. W. Cole, B. R. Oakley, C. L. Rieder, *Curr. Biol.* **2000**, *10*, 59.
- [201] N. M. Mahoney, G. Goshima, A. D. Douglass, R. D. Vale, *Curr. Biol.* **2006**, *16*, 564.
- [202] P. R. Clarke, C. M. Zhang, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 464.
- [203] M. Caudron, G. Bunt, P. Bastiaens, E. Karsenti, *Science* **2005**, *309*, 1373.
- [204] P. Kalab, K. Weis, R. Heald, *Science* **2002**, *295*, 2452.
- [205] M. Floer, G. Blobel, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 5313.
- [206] P. Niethammer, P. Bastiaens, E. Karsenti, *Science* **2004**, *303*, 1862.
- [207] P. Kalab, A. Pralle, E. Y. Isacoff, R. Heald, K. Weis, *Nature* **2006**, *440*, 697.
- [208] O. J. Gruss, et al., *Cell* **2001**, *104*, 83.
- [209] M. V. Nachury, T. J. Maresca, W. G. Salmon, C. M. Waterman-Storer, R. Heald, K. Weis, *Cell* **2001**, *104*, 95.
- [210] C. Wiese, A. Wilde, M. S. Moore, S. A. Adam, A. Merdes, Y. X. Zheng, *Science* **2001**, *291*, 653.
- [211] A. Khodjakov, L. Copenagle, M. B. Gordon, D. A. Compton, T. M. Kapoor, *J. Cell Biol.* **2003**, *160*, 671.
- [212] H. Maiato, C. L. Rieder, A. Khodjakov, *J. Cell Biol.* **2004**, *167*, 831.
- [213] C. L. Rieder, *Chromosoma* **2005**, *114*, 310.

- [214] Man vermutete, dass die Diffusion von Ran-GTP durch die Verringerung des verfügbaren Raums oder der Dimensionalität zum Beispiel durch das ER erleichtert wird (S. Dumont, T. J. Mitchison, *Curr. Biol.* **2009**, *19*, 1086 und J. Ellenberg, E. D. Siggia, J. E. Moreira, C. L. Smith, J. F. Presley, H. J. Worman, J. Lippincott-Schwartz, *J. Cell Biol.* **1997**, *138*, 1193). In zwei aktuellen Untersuchungen wurde die Bildung der Spindel in Abwesenheit von Ran-GTP nachgewiesen (W. C. Earnshaw, M. Carmena, *J. Cell Biol.* **2003**, *160*, 989 und E. Bucciarelli, M. G. Giansanti, S. Bonaccorsi, M. Gatti, *J. Cell Biol.* **2003**, *160*, 993). Um diese überraschenden Befunde zu erklären, schlug Hunding einen Mechanismus vor, der auf der kooperativen Bindung destabilisierender Proteine auf Mikrotubuli beruht (Lit. [194]). Andere Modelle und experimentelle Details: M. Mogilner, R. Wollman, G. Civelekoglu-Scholey, J. Scholey, *Trends Cell Biol.* **2006**, *16*, 88 und M. Glotzer, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2009**, *10*, 9).
- [215] S. F. Gilbert, *Developmental Biology*, 7. Aufl., Sinauer Associates, Sunderland, **2003**.
- [216] F. Grinnell, *J. Cell Biol.* **1994**, *124*, 401.
- [217] O. Marin, M. Valdeolmillos, F. Moya, *Trends Neurosci.* **2006**, *29*, 655.
- [218] J. T. H. Mandeville, M. A. Lawson, F. R. Maxfield, *J. Leukocyte Biol.* **1997**, *61*, 188.
- [219] P. Friedl, K. Wolf, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 362.
- [220] K. Kandere-Grzybowska, C. J. Campbell, G. Mahmud, Y. Komarova, S. Soh, B. A. Grzybowski, *Soft Matter* **2007**, *3*, 672.
- [221] S. Burlacu, P. A. Janmey, J. Borejdo, *Am. J. Physiol.* **1992**, *262*, C569.
- [222] D. Drenckhahn, T. D. Pollard, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 12754.
- [223] A. Wegner, *J. Mol. Biol.* **1976**, *108*, 139.
- [224] I. Fujiwara, S. Takahashi, H. Tadakuma, T. Funatsu, S. Ishiwata, *Nat. Cell Biol.* **2002**, *4*, 666.
- [225] Der „Tretmühlen“-Mechanismus in Actinnetzwerken unterscheidet sich in mehrfacher Hinsicht von dem in einzelnen Filamenten. Innerhalb des Netzwerks werden neue Filamente nahe an der Membran als Verzweigungen bereits existierender Filamente gebildet, wobei das (+)-Ende verlängert und das (-)-Ende an den Verzweigungspunkten blockiert wird. Wenn die Zelle weiterwandert, werden die Filamente durchgesetzt durch Auflösung der Verzweigung und Entfernen und Depolymerisieren der (-)-Enden. Auch gereinigte Actinfilamente werden sehr langsam nach diesem Mechanismus umgebaut mit einer Geschwindigkeit um $0.04 \mu\text{m min}^{-1}$, was nicht die schnelle Bewegung von Keratocyten (ca. $10 \mu\text{m min}^{-1}$) erklären kann. Der schnellere Durchsatz von Filamenten in Zellen wird durch eine Anzahl actinbindender regulatorischer Proteine erreicht. Weitere Details: T. D. Pollard, G. G. Borisy, *Cell* **2003**, *112*, 453, Y. L. Wang, *J. Cell Biol.* **1985**, *101*, 597 und T. M. Svitkina, G. G. Borisy, *J. Cell Biol.* **1999**, *145*, 1009.
- [226] M. A. Wear, D. A. Schafer, J. A. Cooper, *Curr. Biol.* **2000**, *10*, R891.
- [227] S. Schaub, S. Bohnet, V. M. Laurent, J. J. Meister, A. B. Verkhovsky, *Mol. Biol. Cell* **2007**, *18*, 3723.
- [228] I. L. Novak, B. M. Slepchenko, A. Mogilner, *Biophys. J.* **2008**, *95*, 1627.
- [229] A. Mogilner, L. Edelstein-Keshet, *Biophys. J.* **2002**, *83*, 1237.
- [230] D. Didry, M. F. Carlier, D. Pantaloni, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 25602.
- [231] J. L. McGrath, Y. Tardy, C. F. Dewey, J. J. Meister, J. H. Hartwig, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 2070.
- [232] Bezeichnet man die Konzentration von Actinmonomeren als c_A , ist die Geschwindigkeit der Polymerisationsreaktion erster Ordnung $dc_A/dt = -k c_A$. Dies lässt sich auflösen nach $c_A/c_0 = \exp(-kt)$, wobei c_0 die Anfangskonzentration und $1/k$ die charakteristische Zeit ist, um das Konzentrationsverhältnis c_A/c_0 zu erreichen, das für die „Zerfallsgeschwindigkeit“ von monomerem Actin charakteristisch ist.
- [233] Nach einigen Experimenten sollte der G-Actin-Transport zum vorderen Ende schneller als $5 \mu\text{m s}^{-1}$ ablaufen (D. Zicha, I. M. Dobbie, M. R. Holt, J. Monypenny, D. Y. H. Soong, C. Gray, G. A. Dunn, *Science* **2003**, *300*, 142); diese Geschwindigkeit ist mit reiner Diffusion schwer zu erklären, sodass über die Beteiligung eines hydrodynamischen Flusses innerhalb der Zelle spekuliert wurde. Eine Möglichkeit, einen solchen Fluss zu induzieren, besteht in der Erzeugung von Druckdifferenzen: niedriger Druck da, wo die Zelle Ausstülpungen ausbildet (also an der Vorderseite der Zelle) und höherer Druck dort, wo die Zelle kontrahiert (also am hinteren Ende). Der Fluss von Regionen hohen zu Regionen niedriger Drucks würde dann G-Actin zum vorderen Zellende verfrachten. Die Stichhaltigkeit dieses Szenarios wurde jedoch infrage gestellt, und Autoren wie Novak (Lit. [228]) vertreten die Auffassung, dass druckgetriebene Flüsse keinen spürbaren Effekt auf die G-Actin-Verteilung hätten.
- [234] J. W. Dai, M. P. Sheetz, X. D. Wan, C. E. Morris, *J. Neurosci.* **1998**, *18*, 6681.
- [235] J. W. Dai, M. P. Sheetz, *Biophys. J.* **1999**, *77*, 3363.
- [236] D. Raucher, M. P. Sheetz, *J. Cell Biol.* **1999**, *144*, 497.
- [237] C. A. Erickson, *J. Cell Sci.* **1980**, *44*, 187.
- [238] N. O. Petersen, W. B. McConaughay, E. L. Elson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1982**, *79*, 5327.
- [239] V. C. Abraham, V. Krishnamurthi, D. L. Taylor, F. Lanni, *Biophys. J.* **1999**, *77*, 1721.
- [240] E. S. Chhabra, H. N. Higgs, *Nat. Cell Biol.* **2007**, *9*, 1110.
- [241] M. Abercrombie, J. E. Heaysman, S. M. Pegrum, *Exp. Cell Res.* **1970**, *60*, 437.
- [242] R. Shlomovitz, N. S. Gov, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *98*, 168103.
- [243] N. S. Gov, A. Gopinathan, *Biophys. J.* **2006**, *90*, 454.
- [244] A. Veksler, N. S. Gov, *Biophys. J.* **2007**, *93*, 3798.
- [245] D. Raucher, M. P. Sheetz, *J. Cell Biol.* **2000**, *148*, 127.
- [246] A. Mogilner, B. Rubinstein, *Biophys. J.* **2005**, *89*, 782.
- [247] A. Hall, *Science* **1998**, *279*, 509.
- [248] T. M. Svitkina, E. A. Bulanova, O. Y. Chaga, D. M. Vignjevic, S. Kojima, J. M. Vasiliev, G. G. Borisy, *J. Cell Biol.* **2003**, *160*, 409.
- [249] D. Vignjevic, S. Kojima, T. Svitkina, G. G. Borisy, *J. Cell Biol.* **2006**, *174*, 863.
- [250] Y. S. Aratyn, T. E. Schaus, E. W. Taylor, G. G. Borisy, *Mol. Biol. Cell* **2007**, *18*, 3928.
- [251] S. H. Zigmond, M. Joyce, J. Borleis, G. M. Bokoch, P. N. Devreotes, *J. Cell Biol.* **1997**, *138*, 363.
- [252] C. A. Parent, P. N. Devreotes, *Science* **1999**, *284*, 765.
- [253] P. A. Iglesias, P. N. Devreotes, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2008**, *20*, 35.
- [254] C. Janetopoulos, R. A. Firtel, *FEBS Lett.* **2008**, *582*, 2075.
- [255] H. Meinhardt, A. Gierer, *Bioessays* **2000**, *22*, 753.
- [256] H. Meinhardt, *J. Cell Sci.* **1999**, *112*, 2867.
- [257] B. Kutscher, P. Devreotes, P. A. Iglesias, *Sci. STKE* **2004**, pl3.
- [258] A. Levchenko, P. A. Iglesias, *Biophys. J.* **2002**, *82*, 50.
- [259] R. Skupsky, W. Losert, R. J. Nossal, *Biophys. J.* **2005**, *89*, 2806.
- [260] L. Ma, C. Janetopoulos, L. Yang, P. N. Devreotes, P. A. Iglesias, *Biophys. J.* **2004**, *87*, 3764.
- [261] H. Levine, D. A. Kessler, W. J. Rappel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 9761.
- [262] A. Narang, K. K. Subramanian, D. A. Lauffenburger, *Ann. Biomed. Eng.* **2001**, *29*, 677.
- [263] K. K. Subramanian, A. Narang, *J. Theor. Biol.* **2004**, *231*, 49.
- [264] Wir machen zwei allgemeine Anmerkungen zu dem Modell:
 1) Die Notwendigkeit eines Turing-ähnlichen Mechanismus. Wenn A und I beide unbeweglich wären oder sich mit gleicher Geschwindigkeit bewegen würden, könnte die Zelle keine Gradienten von Lockstoffen erfassen. In jedem dieser Fälle wären A und I in der ganzen Zelle in vergleichbaren Konzen-

trationen vorhanden, und die Effekte von Aktivierung und Inhibierung würden sich effizient aufheben, sodass R räumlich homogen verteilt wäre [siehe Gl. (22)].

2) Vorhersagen des Modells: I ist in der gleichen Orientierung polarisiert wie R , weil I durch S aktiviert wird [was durch den zweiten Term auf der rechten Seite von Gl. (21) repräsentiert wird, in dem die Wachstums geschwindigkeit von I proportional zu S ist.]

- [265] Das LEGI-Modell gilt beispielsweise auch für die experimentelle Beobachtung, dass die Zelle, wenn sie eine räumlich homogene Zunahme der Lockstoffkonzentration registriert, durch die vorübergehende Steigerung der Konzentrationen von A und I „adaptiert“. Später gehen diese Konzentrationen auf die anfänglichen Fließgleichgewichtswerte zurück.
- [266] A. T. Sasaki, C. Chun, K. Takeda, R. A. Firtel, *J. Cell Biol.* **2004**, *167*, 505.
- [267] C. Janetopoulos, L. Ma, P. N. Devreotes, P. A. Iglesias, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 8951.
- [268] A. S. Mikhailov, G. Ertl, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 86.
- [269] J. Horvath, I. Szalai, P. De Kepper, *Science* **2009**, *324*, 772.
- [270] I. R. Epstein, J. A. Pojman, *An Introduction to Nonlinear Chemical Dynamics: Oscillations, Waves, Patterns and Chaos*, Oxford University Press, New York, **1998**.
- [271] I. R. Epstein, K. Showalter, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 13132.
- [272] V. Castets, E. Dulos, J. Boissonade, P. Dekepper, *Phys. Rev. Lett.* **1990**, *64*, 2953.
- [273] D. E. Strier, S. P. Dawson, *PLoS ONE* **2007**, *2*, e1053.
- [274] K. J. M. Bishop, C. E. Wilmer, S. Soh, B. A. Grzybowski, *Small* **2009**, *5*, 1600.
- [275] a) K. Kandere-Grzybowska, C. Campbell, Y. Komarova, B. A. Grzybowski, G. G. Borisy, *Nat. Methods* **2005**, *2*, 739; b) G. Mahmud, C. J. Campbell, K. J. M. Bishop, Y. A. Komarova, O.

Chaga, S. Soh, S. Huda, K. Kandere-Grzybowska, B. A. Grzybowski, *Nat. Phys.* **2009**, *5*, 606.

- [276] R. Gallagher, T. Appenzeller, *Science* **1999**, *284*, 79.
- [277] J. Crank, *The Mathematics of Diffusion*, Oxford University Press, London, **1975**.
- [278] R. Matteoni, T. E. Kreis, *J. Cell Biol.* **1987**, *105*, 1253.
- [279] E. Nielsen, F. Severin, J. M. Backer, A. A. Hyman, M. Zerial, *Nat. Cell Biol.* **1999**, *1*, 376.
- [280] D. R. C. Klopfenstein, F. Kappeler, H. P. Hauri, *EMBO J.* **1998**, *17*, 6168.
- [281] I. M. Kulic, A. E. X. Brown, H. Kim, C. Kural, B. Blehm, P. R. Selvin, P. C. Nelson, V. I. Gelfand, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 10011.
- [282] M. Kloc, N. R. Zearfoss, L. D. Etkin, *Cell* **2002**, *108*, 533.
- [283] N. Hirokawa, R. Takemura, *Nat. Rev. Neurosci.* **2005**, *6*, 201.
- [284] J. S. Tabb, B. J. Molyneaux, D. L. Cohen, S. A. Kuznetsov, G. M. Langford, *J. Cell Sci.* **1998**, *111*, 3221.
- [285] S. L. Rogers, V. I. Gelfand, *Curr. Biol.* **1998**, *8*, 161.
- [286] I. Semenova, A. Burakov, N. Berardone, I. Zaliapin, B. Slepchenko, T. Svitkina, A. Kashina, V. Rodionov, *Curr. Biol.* **2008**, *18*, 1581.
- [287] V. Mermall, P. L. Post, M. S. Mooseker, *Science* **1998**, *279*, 527.
- [288] L. Sherwood, *Fundamentals of Physiology: A Human Perspective*, 3. Aufl., Brooks/Cole, Belmont, CA, **2005**.
- [289] M. Falcke, *Adv. Phys.* **2004**, *53*, 255.
- [290] C. A. Athale, A. Dinarina, M. Mora-Coral, C. Pugieux, F. Nedelec, E. Karsenti, *Science* **2008**, *322*, 1243.
- [291] T. E. Schaus, E. W. Taylor, G. G. Borisy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 7086.
- [292] D. Kostrewa, F. K. Winkler, *Biochemistry* **1995**, *34*, 683.
- [293] J. V. Small, B. Geiger, I. Kaverina, A. Bershadsky, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 957.
- [294] J. Ptacek, et al., *Nature* **2005**, *438*, 679.