

# Rekonstitution der Pol-zu-Pol-Oszillationen von Min-Proteinen in mikrotechnisch hergestellten Polydimethylsiloxan-Kammern\*\*

Katja Zieske und Petra Schwille\*

Die Zellteilung ist ein hochgradig regulierter Prozess, und selbst „einfache“ Organismen wie das Bakterium *Escherichia coli* verwenden komplexe Mechanismen, um ihre zeitliche und räumliche Organisation während der Zytokinese zu steuern. *E. coli* teilt sich typischerweise durch binäre Teilung, einen Prozess, der durch das Divisom (einem Proteinkomplex, der in einer ringähnlichen Struktur in der Mitte der Zelle lokalisiert ist) vermittelt wird. Die Lokalisation des Divisoms wird räumlich vom Min-System, das aus den drei Proteinen MinC, MinD und MinE besteht, geregelt. Eine besonders interessante Eigenschaft dieser Proteine ist die Fähigkeit zur Selbstorganisation und zur dynamischen Pol-zu-Pol-Oszillation,<sup>[1–6]</sup> wodurch zeitlich gemittelt ein inhomogenes Konzentrationsprofil der Min-Proteine mit der höchsten Konzentration an den Zellpolen und der niedrigsten Konzentration in der Mitte der Zelle entsteht.<sup>[3,5–7]</sup> In den letzten drei Jahrzehnten sind die Rollen von MinC, MinD und MinE bei der räumlichen Regulation der Zellteilung von *E. coli* intensiv untersucht worden. In Experimenten mit Deletionsmutanten und fluoreszenzmarkierten Proteinen zeigte sich, dass MinE und MinD für den Mechanismus der dynamischen Pol-zu-Pol-Oszillationen verantwortlich sind und MinC ein Zellteilungs-Inhibitor ist, der den Bewegungen der anderen beiden Min-Proteine durch Bindung an MinD folgt und dadurch die Zellteilung nahe der Zellpole unterbindet.<sup>[2,4,8–10]</sup> Die biochemische Grundlage des Min-Systems wurde durch In-vitro-Studien mit aufgereinigten Min-Proteinen aufgeklärt.<sup>[11–14]</sup> Es wurde gezeigt, dass MinD eine ATPase ist und dass MinD.ATP mithilfe einer amphipathischen Helix an Membranen bindet.<sup>[12,15,16]</sup> Die Assoziation von MinE mit MinD aktiviert die ATPase-Aktivität von MinD, was zur Dissoziation der Min-Proteine von der Membran führt.<sup>[13,14]</sup> Anschließend wird MinD.ADP zu MinD.ATP umgewandelt, und in sich wiederholenden Zyklen aus kooperativem Membranbinden und -lösen selbstorganisieren sich die Min-Proteine und formen Muster.<sup>[3,5–6]</sup> Loose et al. zeigten, dass aufgereinigte Min-Proteine in der Lage sind, sich in einer

künstlichen Umgebung aus festkörpergestützten Lipidmembranen selbstzuorganisieren.<sup>[17]</sup> Die Min-Proteine formten dynamische wellenartige Muster auf den Lipidmembranen, was darauf schließen lässt, dass der Mechanismus, der die Proteinwellen in vitro erzeugt, der gleiche ist wie für die Min-Oszillationen in vivo.<sup>[17]</sup> Aber was sind die mechanistischen Voraussetzungen für das Auftreten von regelmäßigen, richtungweisenden Oszillationen? Studien mit abweichend geformten *E. coli*-Zellen sowie theoretische Modelle weisen darauf hin, dass die Zellform eine Rolle bei der Min-Protein-Musterbildung spielt.<sup>[18–22]</sup> Bislang wurden die Min-Protein-Oszillationen jedoch nicht in Minimalsystemen rekonstruiert, und somit fehlte bisher ein wohldefiniertes System, um die Beziehung zwischen Kompartimentgeometrie und der Fähigkeit der Oszillationen, als raum-zeitlicher Taktgeber zu fungieren, untersuchen zu können.

Hier zeigen wir erstmals, dass Min-Protein-Oszillationen in einem synthetischen System generiert werden können. Wir verwenden ein System bestehend aus Modellmembranen und mikrometergroßen Reaktionskammern und zeigen, dass Min-Oszillationen in limitierten Probenvolumina mit Bakterien-ähnlicher Form auftreten. Darüber hinaus untersuchen wir den Einfluss von Geometrie auf die Min-Protein-Musterbildung in synthetischen Systemen und vergleichen unsere Befunde mit Studien an lebenden Zellen, die den Einfluss von abweichend geformten Bakterien auf ihre Min-Proteindynamik zeigten. Unsere Daten belegen, dass die Musterbildung in runden und fadenförmigen Zellen in vitro reproduziert werden kann und liefern weitere Belege dafür, dass die Zellgeometrie eine zentrale Rolle bei der biologischen Musterbildung und für die zeitliche Taktgebung spielt.

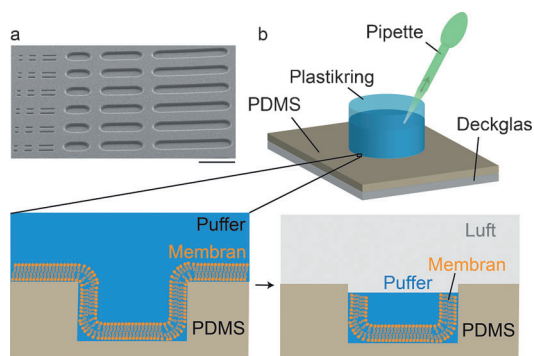
In sphärischen und fadenförmigen *E.-coli*-Zellen ist die Min-Musterbildung gegenüber der in Wildtyp-Zellen verändert.<sup>[3,18,23]</sup> Daher nahmen wir an, dass oszillierende Min-Muster in *E. coli* eine bestimmte Größe und Form des Bakteriums erfordern, und dass das gleiche für ein In-vitro-System gelten müsste. Um diese Hypothese zu testen, konstruierten wir ein biomimetisches System mit eingeschränkten Reaktionsvolumina wohldefinierter Geometrie, in denen die dynamische Min-Musterbildung untersucht werden konnte. Um das Probenvolumen auf mikrometergroße Abmessungen zu beschränken, produzierten wir mikrotechnisch hergestellte Polydimethylsiloxan(PDMS)-Kammern. Ihre Dimensionen wurden entsprechend den etwa zehnmal längeren Min-Wellenlängen in vitro gegenüber denen in lebenden Bakterien skaliert. Mit Standard-Photolithographietechniken wurden Resistmikrostrukturen mit zellähnlicher Form und einer Höhe von 10 µm auf Si-Wafern hergestellt, gegen die PDMS abgeformt werden konnte. Nach dreistündiger Aushärtung bei 80°C wurde das PDMS (Abbildung 1 a) ab-

[\*] K. Zieske, Prof. Dr. P. Schwille  
Zelluläre und molekulare Biophysik  
Max-Planck-Institut für Biochemie  
Am Klopferspitz 18, 82152 Martinsried (Deutschland)  
E-Mail: schwille@biochem.mpg.de

[\*\*] Wir danken Helge Vogl für technische Unterstützung und Zdenek Petrášek für Anmerkungen zum Manuskript. Diese Arbeit wurde vom DFG Center of Excellence „Nanosystems Initiative Munich“ (NIM), dem SFB 1032 und dem ESF EuroSYNBIO/SYNDIV gefördert. K.Z. wird durch die „International Max Planck Research School for Molecular and Cellular Life Sciences“ (IMPRS-LS) unterstützt.



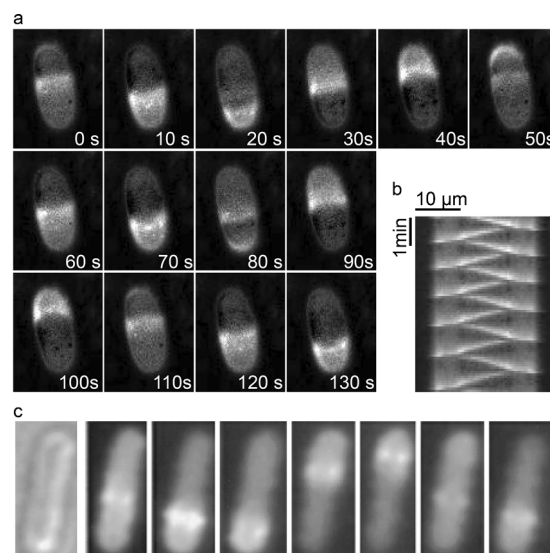
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201207078> zu finden.



**Abbildung 1.** Experimenteller Aufbau eines synthetischen Modellsystems für Min-Protein-Oszillationen. a) Elektronenmikroskopische Aufnahme einer mikrostrukturierten PDMS-Membranunterlage. Skala: 100 µm. b) Membranen wurden mit Vesikelfusionstechniken auf PDMS-Mikrostrukturen hergestellt. MinD und MinE wurden zum Puffer hinzugefügt, und anschließend wurde das Pufferniveau bis unterhalb des oberen Randes der Mikrostrukturen verringert. Die Abbildung ist nicht maßstabsgetreu.

gezogen, was in einer festen PDMS-Schicht mit Mikrostrukturen resultierte, die als Träger für Lipidmembranen verwendet wurde. Die *E. coli*-Lipidmembranen wurden durch Vesikelfusion erzeugt und nahmen die Topografie der darunterliegenden PDMS-Strukturen an. Die zweidimensionale Beweglichkeit der Membran wurde durch FRAP (FRAP = Fluorescence Recovery after Photobleaching; Daten nicht gezeigt) bestätigt. Als aufgereinigtes MinD (1 µm), MinE (1 µm) und Alexa488-markiertes MinE (0.1 µm) zum Pufferreservoir über der Lipiddoppelschicht hinzugefügt wurden, konnte die Bildung von selbstorganisierenden Oberflächenwellen ähnlich der Muster, die von Loose et al.<sup>[17]</sup> beschrieben worden waren, beobachtet werden (Hintergrundinformationen, Film 1). Nach der Bildung der Min-Protein-Wellen wurde der Puffer auf ein Niveau unterhalb des oberen Randes des PDMS-Strukturen verringert, um Pikoliter-Probenvolumina (Abbildung 1b) zu erzeugen.

Um Min-Musterbildung in begrenzten Volumina mit wohldefinierter Geometrie zu untersuchen, haben wir das Fluoreszenzsignal von MinE-Alexa488 in stabförmigen Mikrokammern von 10 µm Höhe, 10 µm Breite und 25 µm Länge mit konfokaler Zeitraffer-Mikroskopie aufgenommen. Die Beschränkung auf geringe Volumina und stabförmige Geometrie führte tatsächlich zu regelmäßigen Oszillationen des Fluoreszenzsignals. Mit anderen Worten oszillierte MinE-Alexa488 in einer Weise, die stark den Min-Oszillationen in vivo (Abbildung 2) ähnelte, schnell zwischen den beiden Polen des PDMS-Hohlraums hin und her. In sich wiederholenden Zyklen trennten sich die Min-Proteine von der Membran, sobald sie einen Pol der Mikrostruktur erreicht hatten, setzten sich dann in der Nähe der Mitte der Struktur wieder zusammen und bewegten sich in Richtung des entgegengesetzten Pols. Durch sich wiederholende Zyklen von kooperativer Membranassoziation, Wellenausbreitung in Richtung der Pole und Membrandissoziation wurden oszillierende Min-Muster gebildet. Um die Oszillationen in vitro besser mit Oszillationen in vivo vergleichen zu können, wurde die durchschnittliche Oszillationsperiode in dem syntheti-



**Abbildung 2.** Synthetische Min-Protein-Oszillationen sind mit der Musterbildung in vivo vergleichbar. a) Zeitserie konfokaler Abbildungen von aufgereinigten Min-Proteinen auf Lipidmembranen in einem PDMS-Mikrokompartiment. Die PDMS-Struktur ist 10 µm breit, 25 µm lang und 10 µm hoch. 1 µm MinD, 1 µm MinE mit 10% Alexa488-markiertem MinE. Die Abbildungen wurden durch Subtraktion der durchschnittlichen Intensität während der Aufnahmezeit der Zeitserien modifiziert, um fluoreszierende Hintergrundsignale zu entfernen. b) Kymograph (Zeit-Raum-Diagramm) für MinE-Alexa488 entlang der Längsachse des Kompartiments in (a). c) Min-Protein-Oszillationen in vivo. Wiedergabe aus Lit. [5] (Copyright: 2001, The National Academy of Sciences, U.S.A.).

schen System bestimmt. Die Oszillationsperiode in *E. coli* beträgt 0.5 bis 2 Minuten, was weit unterhalb der Generationszeit von *E. coli* liegt, die unter optimalen Bedingungen ca. 20 min beträgt.<sup>[3,5-6]</sup> Die kurze Oszillationsperiode ermöglicht es den Min-Proteinen, mehrere Oszillationen zwischen zwei sukzessiven Zellteilungen durchzuführen und gibt der Zelle die Möglichkeit, zeitlich gemittelt ein Proteinkonzentrationsprofil zu erzeugen, das die geringste Proteinkonzentration in der Zellmitte hat. In Übereinstimmung mit Literaturwerten von 0.5 bis 2 min für die Oszillationsperiode in *E. coli* beträgt die durchschnittliche Oszillationsdauer von  $n=6$  synthetischen Proben 70 s mit einer Standardabweichung von 13 s. Berücksichtigt man, dass die Min-Proteine Oberflächenwellen bilden, bevor das Probenvolumen reduziert wird und die Proteine zu oszillieren beginnen, belegen unsere Befunde, dass wellenartige Muster in der Tat dem gleichen Mechanismus wie oszillierende Muster unterliegen und dass die Größe und Geometrie des Reaktionsvolumens tatsächlich Bedingung für das Auftreten der Oszillationen ist. Es ist dabei zu beachten, dass das Reaktionsvolumen im Unterschied zu einer dreidimensionalen Zelle nicht vollständig von einer Membran umgeben ist, sondern dass die obere Fläche des Probenvolumens an Luft grenzt. Auch wenn die Lipidmembran und die Einschränkung des Probenvolumens für das Auftreten von Min-Oszillationen erforderlich sind, ist eine vollständige Umschließung der Min-Proteine in Membranhüllen also nicht zwingend nötig.

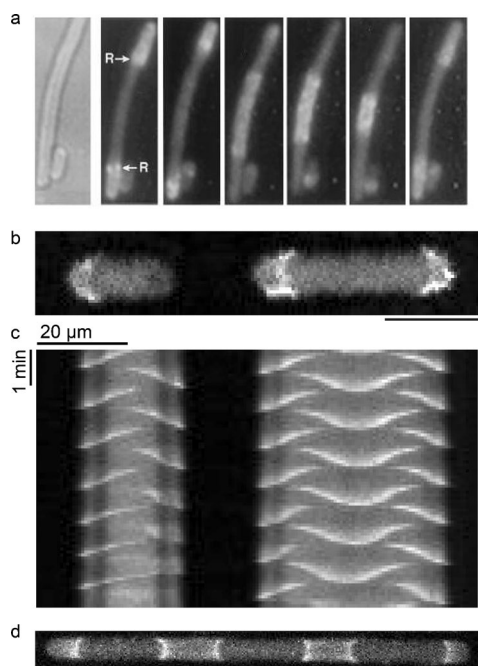
Wie oben erwähnt, ist die Wellenlänge der Min-Muster auf flachen Membranen typischerweise um eine Größenord-

nung größer als in vivo (3.0–4.0  $\mu\text{m}$ ).<sup>[24]</sup> Unter Berücksichtigung dieser Tatsache konnten PDMS-Strukturen, die deutlich größer als Bakterienzellen waren, verwendet werden, um die gleichen Muster zu beobachten. Obwohl die Oszillationen nun in vitro reproduziert werden können, ist es immer noch eine offene Frage, wie genau die Größe der Min-Muster bestimmt wird. Die Muster könnten durch Viskosität beeinflusst werden,<sup>[17]</sup> aber auch andere regulierende Faktoren, z.B. verstärkter biochemischer Wettbewerb um die Min-Proteine in der zellulären Umgebung, können nicht ausgeschlossen werden. Derzeit stehen experimentelle Belege für einen Schlüsselparameter, der die Größe der Min-Muster moduliert, noch aus und sollten in zukünftigen Studien betrachtet werden. Dennoch ist die Möglichkeit, Min-Proteinmuster in größeren Kompartimenten als einer Bakterienzelle zu reproduzieren, sehr komfortabel, da Strukturen in der Größenordnung von zehn Mikrometern einfach mit photolithographischen Techniken hergestellt werden können und die Beobachtung der dynamischen Prozesse weit über der optischen Auflösungsgrenze wesentlich einfacher ist.

Nachdem oszillierende Min-Muster in stabförmigen Hohlräumen beobachtet worden waren, vermuteten wir, dass unser Ansatz auch angewendet werden könnte, um Min-Muster in fadenförmigen Zellen zu reproduzieren, die mehrere dynamische MinE-Ringe aufweisen (Abbildung 3a).<sup>[5,6,24]</sup> Um die Musterbildung abhängig von der

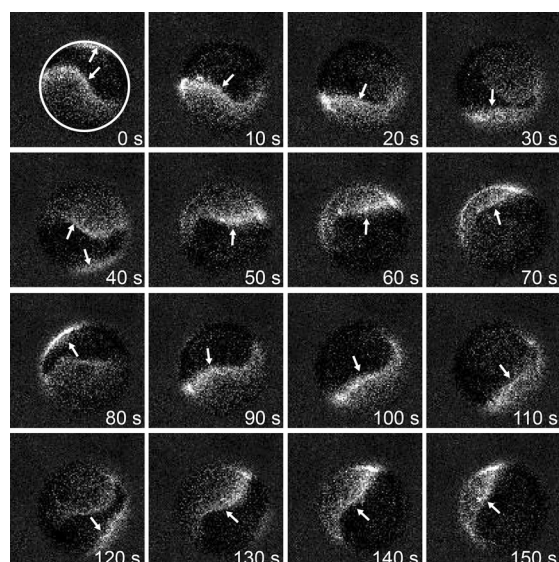
Kompartimentlänge zu untersuchen, wurde die Min-Musterbildung in 45  $\mu\text{m}$  langen Kompartimenten (statt in den zuvor genannten 25  $\mu\text{m}$  langen Kompartimenten) untersucht. In einigen der langen Kompartimente wurden weiterhin Pol-zu-Pol-Oszillationen beobachtet (Hintergrundinformationen, Film 2). In vielen der 45  $\mu\text{m}$  langen Kompartimente ähnelten die MinE-Muster tatsächlich den Mustern von fadenförmigen Zellen: Wie in kurzen bakteriellen Filamenten wurden im synthetischen System zwei unterschiedliche MinE-Regionen detektiert (Abbildung 3b), die wiederholt die folgende Abfolge von Schritten durchliefen: Die Min-Regionen bewegten sich in Richtung der Mikrostrukturpole, dissoziierten anschließend von der Membran und reassozierten wieder zwischen dem Pol und dem Zentrum. Danach bewegten sich die fluoreszierenden MinE-Regionen in entgegengesetzter Richtung zum Zentrum, trennten sich von der Membran und setzten sich wieder zwischen Pol und Mitte zusammen, um sich in Richtung Pol der Struktur zu bewegen. Die Bewegung der MinE-Muster scheint dabei hoch koordiniert zu sein, weil die eine MinE-Struktur die andere in Bezug auf eine Symmetrieebene im Zentrum senkrecht zur Längsachse spiegelt. Bei der Untersuchung von noch längeren Kompartimenten als 45  $\mu\text{m}$  wurde der Anteil an Mustern mit nur einer hellen oszillierenden Region, zugunsten derjenigen mit mehreren hellen Regionen, noch geringer. In 195  $\mu\text{m}$  langen Strukturen wurden sogar Muster mit bis zu vier hellen Bereichen beobachtet (Abbildung 3d). In Anbetracht der unterschiedlichen Muster in kurzen und langen synthetischen Zellen (aber unter ansonsten gleichen Bedingungen) scheint es offensichtlich, dass die Min-Muster über die Kompartimentlänge moduliert werden können. In Übereinstimmung mit Untersuchungen in fadenförmigen Zellen<sup>[5,6,24]</sup> lassen unsere Daten darauf schließen, dass mehrere Min-Ringe in fadenförmigen Bakterien wegen der Länge der Zellen auftreten und dass außer geometrischen Merkmalen keine weiteren Parameter für die Entstehung mehrerer versus einzelner mobiler MinE-Ringe benötigt werden.

Zur weiteren Aufklärung des Einflusses der Probengeometrie auf die Musterbildung untersuchten wir Min-Muster in runden, d.h. zylindrischen PDMS-Hohlräumen mit einer Höhe von 10  $\mu\text{m}$  und einem Durchmesser von 40  $\mu\text{m}$ . Wenn die Richtungsabhängigkeit der Min-Muster durch die Längsachse des Reaktionsvolumens bestimmt wird, sollte keine Vorzugsrichtung der Min-Proteinbewegung in solchen Reaktionsvolumen detektiert werden. Wie erwartet konnte keine eindeutige Ausrichtung der Min-Musterbewegung in solche Reaktionsvolumen beobachtet werden. Hauptsächlich haben wir drei Arten der Min-Musterbewegung in zylindrischen Hohlräumen beobachtet: Zunächst wurden Oszillationen mit sich ändernder Oszillationsachse detektiert (Abbildung 4). Zweitens wurden Muster mit Kreisbewegungen detektiert (Hintergrundinformationen, Film 3). Schließlich beobachteten wir Oszillationen entlang einer festen Achse (Hintergrundinformationen, Film 4), aber die Winkelverteilung in zylindrischen Strukturen mit fester Achse schien zufällig zu sein, und wir können eine Änderung der Achsausrichtung nach der Aufnahmezeit der Zeitrafferserie nicht ausschließen. Die Befunde für zylindrische, künstliche Systeme sind in Einklang mit Studien an sphärischen Zellen, in



**Abbildung 3.** Die Min-Musterbildung wird durch die Länge des Reaktionsvolumens moduliert. a) Min-Proteinmuster in fadenförmigen *E.-coli*-Bakterien. Wiedergabe aus Lit. [5] (Copyright: 2001, The National Academy of Sciences, U.S.A.). b) Konfokale Abbildung von Min-Proteinmustern in kurzen und langen Mikrokompartmenten. Beide Strukturen sind 10  $\mu\text{m}$  hoch und 10  $\mu\text{m}$  breit. Die Längen entsprechen 25  $\mu\text{m}$  und 45  $\mu\text{m}$ . c) Kymograph für MinE-Alexa488 entlang der Längsachse der Kompartimente in (b). Konfokale Abbildung der Min-Proteinmuster in sehr langen Mikrokompartmenten mit einer Länge von 195  $\mu\text{m}$ . Die Struktur ist 10  $\mu\text{m}$  hoch und 10  $\mu\text{m}$  breit.





**Abbildung 4.** Selbstorganisation von aufgereinigten Min-Proteinen in runden Kompartimenten. 1  $\mu\text{M}$  MinD und 1  $\mu\text{M}$  MinE mit 10 % Alexa488-markiertem MinE selbstorganisieren sich in Kompartimenten mit einer Höhe von 10  $\mu\text{m}$  und einem Durchmesser von 40  $\mu\text{m}$ . Die Abbildungen wurden durch Subtraktion der durchschnittlichen Intensität während der Aufnahmezeit der Zeitserien modifiziert, um fluoreszierende Hintergrundsignale zu entfernen.

denen Min-Proteine sich entlang verändernder oder fester Achsen bewegen oder kreisförmige Bewegungen ausführen.<sup>[18]</sup> Wir weisen darauf hin, dass wir ausschließlich Bewegungen entlang einer Achse in allen vorgenannten länglichen Hohlräumen beobachteten. Daher zeigen unsere Untersuchungen der Min-Muster in runden und länglichen Hohlräumen, dass Min-Muster in Geometrien ohne Längsachse erzeugt werden können, aber dass eine längliche Geometrie mit großer Genauigkeit zu Bewegungen entlang einer festen Achse führt.

Wir haben hier gezeigt, dass dynamische Min-Proteinmuster durch geometrische Merkmale in synthetischen Minimalsystemen aus mikrostrukturierten Membranträgern, Lipid-Doppelschichten und aufgereinigten Min-Proteinen moduliert werden können. Durch Anpassung der Größe und Geometrie des Reaktionsvolumens konnten ähnliche Min-Oszillationen wie im Wildtyp, in fadenförmigen und in sphärischen Zellen beobachtet werden. Unsere experimentellen Befunde zeigen, dass die Form von Wildtyp-*E. coli* optimal ist, um Min-Oszillationen hervorzurufen, und belegen, dass Variationen in der Zellform zu Variationen in Min-Proteinmustern und dem Auftreten der taktgebenden Oszillationen führen. Obwohl also die Geometrie von *E. coli*-Membranen relativ einfach gegenüber der vieler anderer Zellen ist, scheint die Zellform doch eine zentrale Rolle bei der Min-Musterbildung und daher auch bei der räumlichen und zeitlichen Regulierung der Zellteilung zu spielen. Wir glauben, dass unser Ansatz, die Auswirkungen der zellulären Form auf die Min-Musterbildung zu untersuchen, eine vielversprechende Methode zur Untersuchung der räumlichen Regulation der Zellteilung bietet und neue Wege im Bereich der Bottom-up-synthetischen Biologie ebnen könnte.

## Experimentelles

**Proteinaufreinigung und -markierung:** His-MinD und His-MinE wurden mit einem N-terminalen His-Tag, wie zuvor in Lit. [17] beschrieben, aufgereinigt. MinE wurde mit AlexaFluor488- $\text{C}_5$ -Maleimid nach Anleitung des Herstellers (Molecular Probes) markiert.

**Mikrofabrikation der PDMS-Strukturen:** Photoresiststrukturen (ma-P 1275, micro resist technology GmbH) auf Si-Wafern (Si-Mat, Kaufering) wurden durch Photolithographie mithilfe einer Chrommaske (Compugraphics Jena GmbH) hergestellt. Der Wafer mit Resiststrukturen wurde mit Chlortrimethylsilan (Sigma-Aldrich) beschichtet. PDMS (Sylgard184, Dow Corning) wurde im Verhältnis 9:1 (Monomer zu Vernetzungsagens) gemischt, im Vakuum entgast und drei Stunden bei 80 °C auf dem Wafer ausgehärtet. Das gehärtete PDMS wurde vorsichtig abgezogen und bis zur weiteren Verwendung bei Raumtemperatur aufbewahrt. Bevor die mikrostrukturierte PDMS-Schicht als Membranträger verwendet wurde, wurde sie 5 min in Ethanol im Ultraschallbad gereinigt, anschließend mit Wasser gespült, luftgetrocknet und einem Sauerstoffplasma ausgesetzt.

**Lipidmembranen (SLBs):** SLBs wurden unter Verwendung von Standard-Vesikelfusionstechniken hergestellt. „*E. coli* polar lipid extract“ in Chloroform wurde von Avanti Polar Lipids bezogen. Die Lipide wurden in einem Glasbehälter unter einem Stickstoffstrom getrocknet und 30 min im Vakuum platziert. Anschließend wurden die getrockneten Lipide in Puffer A (25 mM Tris-HCl pH 7.5, 150 mM KCl, 5 mM  $\text{MgCl}_2$ ) gelöst, 30 min bei 37 °C inkubiert, 15 min im Ultraschallbad behandelt und mit einer Konzentration von 0.5  $\text{mg mL}^{-1}$  auf die PDMS-Träger gegeben. 2.5 mM  $\text{CaCl}_2$  wurde zugegeben, um das Platzen der Vesikel zu erleichtern. Für die Bildung der Lipidmembranen wurden die Vesikel 20 min bei 37 °C inkubiert und anschließend mit Puffer A gewaschen. Für die Versuche mit Min-Proteinen wurden 1  $\mu\text{M}$  MinD, 1  $\mu\text{M}$  MinE mit 10 % Alexa488-markiertem MinE und 2.5 mM ATP zugegeben.

**Mikroskopie:** Die mikroskopischen Aufnahmen erfolgten auf einem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop (LSM780) von ZEISS (Jena), das mit einem ZEISS-Plan-APO-25 $\times$ /NA-0.8-Objektiv ausgestattet war.

Eingegangen am 31. August 2012

Online veröffentlicht am 26. November 2012

**Stichwörter:** Membranen · Min-Proteine · Musterbildung · Oszillationen · Synthetische Biologie

- [1] P. A. de Boer, R. E. Crossley, L. I. Rothfield, *Cell* **1989**, 56, 641–649.
- [2] Z. Hu, A. Mukherjee, S. Pichoff, J. Lutkenhaus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 14819–14824.
- [3] D. M. Raskin, P. A. de Boer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 4971–4976.
- [4] D. M. Raskin, P. A. de Boer, *J. Bacteriol.* **1999**, 181, 6419–6424.
- [5] X. Fu, Y. L. Shih, Y. Zhang, L. I. Rothfield, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 980–985.
- [6] C. A. Hale, H. Meinhardt, P. A. de Boer, *EMBO J.* **2001**, 20, 1563–1572.
- [7] S. L. Rowland, X. Fu, M. A. Sayed, Y. Zhang, W. R. Cook, L. I. Rothfield, *J. Bacteriol.* **2000**, 182, 613–619.
- [8] Z. Hu, J. Lutkenhaus, *Mol. Microbiol.* **1999**, 34, 82–90.
- [9] Z. Hu, J. Lutkenhaus, *J. Bacteriol.* **2000**, 182, 3965–3971.
- [10] A. Dajkovic, G. Lan, S. X. Sun, D. Wirtz, J. Lutkenhaus, *Curr. Biol.* **2008**, 18, 235–244.
- [11] K. Suefui, R. Valluzzi, D. Raychaudhuri, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 16776–16781.
- [12] Z. Hu, E. P. Gogol, J. Lutkenhaus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 6761–6766.
- [13] Z. Hu, J. Lutkenhaus, *Mol. Cell* **2001**, 7, 1337–1343.

- [14] L. L. Lackner, D. M. Raskin, P. A. de Boer, *J. Bacteriol.* **2003**, *185*, 735–749.
  - [15] P. A. de Boer, R. E. Crossley, A. R. Hand, L. I. Rothfield, *EMBO J.* **1991**, *10*, 4371–4380.
  - [16] T. H. Szeto, S. L. Rowland, L. I. Rothfield, G. F. King, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 15693–15698.
  - [17] M. Loose, E. Fischer-Friedrich, J. Ries, K. Kruse, P. Schwill, *Science* **2008**, *320*, 789–792.
  - [18] B. D. Corbin, X. C. Yu, W. Margolin, *EMBO J.* **2002**, *21*, 1998–2008.
  - [19] Y. L. Shih, I. Kawagishi, L. Rothfield, *Mol. Microbiol.* **2005**, *58*, 917–928.
  - [20] J. Halatek, E. Frey, *Cell Rep.* **2012**, *1*, 741–752.
  - [21] A. Varma, K. C. Huang, K. D. Young, *J. Bacteriol.* **2008**, *190*, 2106–2117.
  - [22] E. Fischer-Friedrich, G. Meacci, J. Lutkenhaus, H. Chate, K. Kruse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 6134–6139.
  - [23] S. Ramirez-Arcos, J. Szeto, J. A. Dillon, W. Margolin, *Mol. Microbiol.* **2002**, *46*, 493–504.
  - [24] D. M. Raskin, P. A. de Boer, *Cell* **1997**, *91*, 685–694.
-