

Kooperatives Verhalten von Membranen

*Das Buch der Natur ist mit den Zeichen der Geometrie geschrieben.
Galileo Galilei*

R. Lipowsky

Membranen sind fluide Flächen mit ungewöhnlichen Eigenschaften. Als freie Flächen bilden sie geschlossene Vesikeln mit einer Vielzahl von Formen, die sich z. B. durch Änderung der Temperatur ineinander umwandeln lassen. Zwischen den Membranen wirken entropisch induzierte Kräfte, die auf Phasenübergänge zwischen gebundenen und ungebundenen Membranzuständen führen. Verankert man an den Membranen einzelne Polymere, so entstehen Polymer-Pilze und Polymer-Bürsten, die Krümmungen in den Membranen induzieren und deren Wechselwirkungen verändern. Zwei zentrale Ziele der Membranforschung sind die Aufklärung der komplexen Struktur von natürlichen Biomembranen sowie die Konstruktion von künstlichen Membransystemen mit maßgeschneiderten Eigenschaften. Der Physik kommt dabei die Rolle zu, im Wechselspiel von Theorie und Experiment ein tieferes und quantitatives Verständnis des Membranverhaltens zu entwickeln.

Diese erstaunliche Flexibilität der Membranen beruht auf ihrer Fluidität: Die Moleküle, aus denen die Membranen aufgebaut sind, können die Membran nicht verlassen, aber sie können innerhalb der Membran diffundieren und nachfließen. Trotzdem sind die Membranen stabil: Man kann sie mit Mikropipetten ansaugen, an Oberflächen anheften oder mit optischen Pinzetten, die durch einen fokussierten Laserstrahl erzeugt werden, anzupfen. Entspannte Membranen kann man sogar anbohren, ohne daß sie platzen, das Loch heilt nach einiger Zeit wieder aus.

Einerseits sind uns die Eigenschaften derartiger Flächen nicht vertraut, da es keine analogen makroskopischen Strukturen gibt, die wir direkt wahrnehmen können. Die einzigen fluiden Flächen in unserer makroskopischen Welt sind Seifenfilme und Seifenblasen; aber Seifenblasen stehen unter Spannung und platzen, sobald man sie anbohrt.

Andererseits beruht die Mikrostruktur der gesamten Biosphäre auf derartigen Mem-

branen. Zunächst ist jede lebende Zelle in eine äußere Plasmamembran eingeschlossen. Zusätzlich enthalten die Zellen von Tieren und Pflanzen eine große Zahl von inneren Membranen, die Organellen wie Zellkern oder Mitochondrien räumlich abtrennen. Alle Wechselwirkungen zwischen den Zellen bzw. Organellen und deren Umgebung werden durch diese Membranen vermittelt und gesteuert. Ein Beispiel unter vielen: Während Sie diese Zeilen lesen, docken ständig Vesikeln, die mit Neurotransmittern beladen sind, an die Membranen Ihrer Synapsen an und sorgen dafür, daß Ihre Aktionspotentiale von einer Nervenzellen-Membran zur nächsten „überspringen“ können.

Im folgenden werde ich zunächst einige grundlegende Eigenschaften von Lipidmembranen erklären. Danach folgen drei Kapitel zum kooperativen Verhalten von freien und wechselwirkenden Membranen sowie von Membranen, die mit Polymeren dekoriert sind. Ergänzende Literatur findet der interessierte Leser in [1] und [2].

Einleitung

Membranen aus Lipiden und anderen amphiphilen Molekülen (Moleküle mit wasserabstoßendem und wasseranziehendem Teil) sind eigenartig. In Wasser bilden diese Membranen geschlossene Blasen ohne Ränder, sogenannte Vesikeln, die sehr unterschiedliche Formen annehmen, z. B. die eingedellte Form einer roten Blutzelle, die Form eines Seesterns oder die einer Henkefläche, siehe Abb. 1.

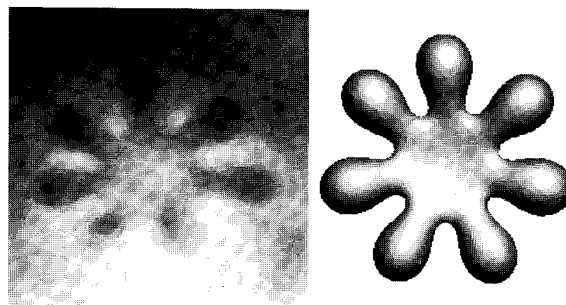
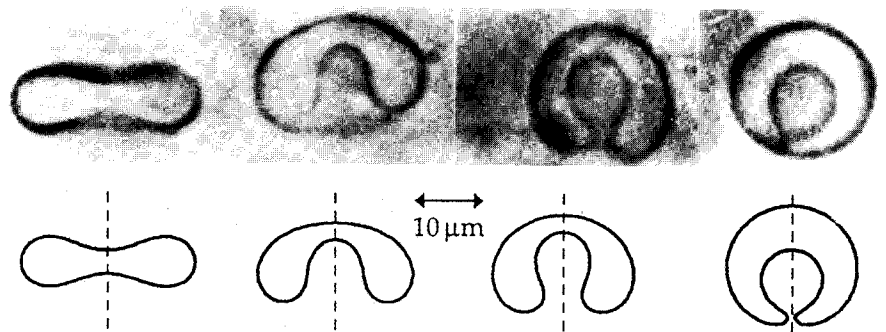


Abb. 1: Polymorphismus von geschlossenen Membranblasen, sog. Vesikeln: (oben) temperaturinduzierte Umwandlung einer eingedellten Blutzellen-Form in eine Kugel mit eingeschlossener Knospe (Temperatur von 43,8 bis 44,1°C). Die Formen sind axialsymmetrisch bzgl. der gestrichelten Achsen; (links) Fingerfläche, die die Form eines siebenarmigen Seesterns hat. Das Titelbild zeigt mehrere Henkeflächen, die durch konforme Transformationen verknüpft sind.

Prof. Dr. Reinhard Lipowsky, MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Kantstraße 55, D-14513 Teltow-Seehof.

Lipidmembranen

Doppelschichten: Lipidmoleküle haben eine wasserlösliche, hydrophile Kopfgruppe und zwei wasserunlösliche, hydrophobe Kohlenwasserstoffketten. Im Wasser bilden die Lipidmoleküle Doppelschichten, in denen die hydrophoben Ketten durch die hydrophilen Köpfe vom Wasser abgeschirmt werden. Diese Doppelschichten sind ca. 4–5 nm dick und können eine laterale Ausdehnung von vielen μm haben. Die einfachsten Doppelschichten bestehen aus einer einzigen oder einigen wenigen Lipidkomponenten. Doppelschichten bilden auch den universellen Grundbaustein aller Biomembranen, die allerdings eine komplexe Mischung aus vielen Lipiden und Membranproteinen enthalten. Die häufigsten Lipide in Biomembranen sind Phospholipide, z. B. Lecithin, Glykolipide und Sphingomyeline [1].

Fluidität: Die mehrkomponentigen Doppelschichten von Biomembranen sind fluide. Das gilt auch für Modellmembranen aus einer Lipidkomponente oberhalb der sogenannten Kettenschmelztemperatur, die je nach Lipid zwischen 10° und 50°C liegt. In dieser fluiden Phase diffundieren die Lipidmoleküle relativ schnell entlang der Membranoberfläche: In einer Sekunde überstreicht ein einzelnes Molekül eine Membranfläche, die in der Größenordnung von einem μm^2 liegt. Dabei bleibt das Lipidmolekül über lange Zeiten in derselben Monoschicht, aber gelegentlich wechselt es auch von einer Monoschicht zur anderen (sog. Flip-Flop).

Doppelschichten zerreißen, sobald man sie um wenige Prozent dehnt. Andererseits läßt sich eine fluide Membran lateral beliebig abscheren, da die Moleküle in der Membran nachfließen können. Deshalb kann man diese Flächen auch beliebig krümmen, da krümmungsinduzierte Scherungen (anders als bei festen Platten oder Schalen) keine Rolle spielen. Die Form der fluiden Membranen wird daher durch ihre Krümmungsenergie bestimmt, die im wesentlichen von einem einzigen Parameter abhängt, nämlich der Biegesteifigkeit.

Biegesteifigkeit: Die Biegesteifigkeit κ von Doppelschichten, die aus einer einzigen Sorte von Phospholipiden bestehen, ist $\kappa \approx 10^{19}$ J; das entspricht bei Raumtemperatur einer thermischen Energie von ca. $20 k_B T$. Durch Hinzugabe von Cholesterol wird die Membran steifer: z. B. läßt sich die Biegesteifigkeit von Phospholipid-Membranen durch Beimischung von 30% Cholesterol um den Faktor drei erhöhen. Das ist erstaunlich, denn gleichzeitig erhöht Cholesterol die Fluidität der Membranen. Wahrscheinlich wurde dieses Molekül in einem langen Evolutionsprozeß selektiert und optimiert, um diese gegenläufigen Effekte zu erzielen.

Beimischung von Colipiden: Die Flexibilität von Lipid-Membranen läßt sich durch Beimischung von Colipiden vergrößern, die eine deutlich höhere Löslichkeit in Wasser haben, als die Lipide selbst. Beispiele sind Tenside und Choleinsäuren. Diese Substanzen sind allerdings gleichzeitig kantenaktiv, d. h. sie fördern die Bildung von Rissen und Poren in der Doppelschicht.

Falls sich die Biegesteifigkeit der Lipid-Membranen durch Beimischung von Colipiden stark reduzieren ließe, ohne daß die Membranen in kleinere Fragmente zerlegt werden, so verhielten sich diese Membranen wie fluide Zufallsflächen. Diese Flächen sind stark gekrumpelt, und geschlossene Flächen haben dasselbe Skalverhalten wie verzweigte Polymere. Da dieses Verhalten in dieser Zeitschrift vor kurzem diskutiert wurde [3], werde ich es im folgenden nicht betrachten.

Freie Membranen

Vesikeln sind geschlossene Membranblasen, deren Formen sich direkt im optischen Mikroskop beobachten lassen. Einige Formen von Vesikeln, die nur aus einer Doppelschicht-Membran bestehen, sind in Abb. 1 gezeigt [4, 5, 6]. Die theoretischen Formen, die in dieser Abbildung dargestellt sind, stellen Minima der Krümmungsenergie dar.

Lokale Krümmungsenergie: Eine gekrümmte Fläche läßt sich durch die mittlere Krümmung $M \equiv (C_1 + C_2)/2$ und durch die Gaußsche Krümmung $G \equiv C_1 C_2$ charakterisieren, wobei C_1 und C_2 die beiden inversen Krümmungsradien sind. Für eine Sattelfläche haben die Krümmungsradien unterschiedliches Vorzeichen, an einem Sattelpunkt gilt $M=0$.

Für die Vesikeln in Abb. 1 sind die Krümmungsradien groß im Vergleich zur Membrandicke $a_{\perp} \approx 4$ nm. Dann kann man die Krümmungsenergie nach Potenzen von $a_{\perp} C_i$ entwickeln. Unter der Annahme, daß sich die Krümmungsenergie \mathcal{E} als Oberflächenintegral über eine lokale Energiedichte ausdrücken läßt, erhält man bis zur zweiten Ordnung den Ausdruck [7]

$$\mathcal{E} = \int d\mathcal{A} \{2\kappa(M - M_{sp})^2 + \kappa_G G\}. \quad (1)$$

Das Integral erstreckt sich über die gesamte Membranfläche und $d\mathcal{A}$ ist das kovariante Flächenelement. Der Modul κ_G der Gaußschen Krümmung hat ebenso wie die Biegesteifigkeit κ die Dimension einer Energie. Die spontane Krümmung M_{sp} berücksichtigt, daß die beiden Seiten der Membran nicht identisch sind, wenn sich die beiden Monoschichten oder die wäßrige Lösung innen und außen in ihrer Zusammensetzung unterscheiden.

Bei der Entwicklung der Krümmungsenergie nach Potenzen von $a_{\perp} C_i$ ist implizit angenommen worden, daß die Membran chemisch homogen ist und daß sie keine Überstruktur aufweist, die eine intermediäre Längenskala zwischen der Membrandicke a_{\perp} und den Krümmungsradien $1/C_i$ auszeichnen würde. Falls eine derartige Überstruktur bei einkomponentigen Membranen auftritt, müßte man Terme höherer Ordnung in der Krümmungsenergie berücksichtigen.

Invarianzeigenschaften: Für geschlossene Flächen ohne Ränder hängt das Integral über die Gaußsche Krümmung *nicht* von der Form der Fläche ab, sondern nur von deren Topologie (Gauß-Bonnet-Theorem der Differentialgeometrie). Falls die spontane Krümmung klein ist, so bleibt von dem Ausdruck in (1) nur der Energieterm $\sim \int d\mathcal{A} M^2$ übrig, der dimensionslos und deshalb skaleninvariant ist. Tatsächlich ist dieser Energieterm sogar unter beliebigen konformen Transformationen des 3-dimensionalen Raumes invariant.

Membranen ohne Flip-Flops: Wenn man eine Doppelschicht-Membran krümmt, dann wird zunächst eine Monoschicht lateral gestaucht und die andere wird lateral gedehnt. Für geschlossene Membranen ohne Ränder kann dieser Dichteunterschied nur dadurch ausgeglichen werden, daß die Moleküle von einer Monoschicht auf die andere überwechseln. Falls derartige Flip-Flops selten sind, erhält man einen weiteren nichtlokalen Energieterm, der von der totalen mittleren Krümmung abhängt, die proportional zur Flächendifferenz der beiden Monoschichten ist. Der entsprechende Energieterm ist minimal, wenn alle Lipidmoleküle in beiden Monoschichten die gleiche optimale Fläche einnehmen [8].

Formtransformationen: Die Vesikelformen, die in Abb. 1 exemplarisch dargestellt sind, entsprechen Formen minimaler Krümmungsenergie, wobei die Oberfläche, das Volumen und die totale mittlere Krümmung der Vesikel durch Temperatur und osmotische Bedingungen festgelegt sind. In Abb. 1(a) ist eine Vesikel gezeigt, die bei Temperaturerhöhung eine Folge von Formumwandlungen durchläuft [4]. Da der thermische Ausdehnungskoeffizient der Lipid-Doppelschicht groß ist im Vergleich zu dem des Wassers, ergibt sich mit zunehmender Temperatur ein Flächenüberschuß, der diese Formumwandlungen bewirkt. Die letzte Form rechts in Abb. 1(a) zeigt eine kleine Kugel innerhalb einer größeren Kugel. Beide Formen sind durch einen engen „Hals“ miteinander verbunden. Dieser Hals besteht aus Sattelpunkten mit $M=0$ und kostet deshalb keine Krümmungsenergie.

In Abb. 1(b) ist eine Vesikel gezeigt, deren Membran eine Fingerfläche bildet, die an

einen siebenarmigen Seestern erinnert [5]. Obwohl sich die Formen in Abb. 1(a) und (b) erheblich von einer Kugelform unterscheiden, so haben sie doch dieselbe Topologie wie eine Kugel.

Henkelflächen und „konforme Diffusion“: Henkelflächen, die sich topologisch von einer Kugel unterscheiden, werden seit langem von Mathematikern untersucht. Die zugehörigen Vesikelformen mit vorgegebener Oberfläche und Volumen wurden dagegen erst vor kurzem berechnet. Außerdem kann man solche Formen seit einigen Jahren auch experimentell präparieren. Im Titelbild dieses Heftes sind mehrere Beispiele für Minimalformen mit zwei Henkeln gezeigt [6].

Die Minimalformen im Titelbild haben alle die gleiche Krümmungsenergie, da sie sich durch konforme Transformationen aufeinander abbilden lassen, aber sie unterscheiden sich noch in ihrer Oberfläche, ihrem Volumen bzw. ihrer totalen mittleren Krümmung. Dagegen sind in Abb. 2 drei konform transformierte Formen gezeigt, die auch in all diesen geometrischen Größen übereinstimmen. Diese konforme Entartung führt auf den neuartigen Prozeß der „konformen Diffusion“, bei dem sich die Form der Vesikel aufgrund thermischer Fluktuationen stetig und konform transformiert. Dieser Prozeß wurde zunächst theoretisch vorhergesagt [6] und ist inzwischen auch experimentell beobachtet worden [9], siehe Abb. 2.

Domänen und Knospung: Bisher wurde angenommen, daß die Membran homogen ist, d. h., daß sie überall die gleiche chemische Zusammensetzung und deshalb auch die gleichen elastischen Eigenschaften hat. Für mehrkomponentige Membranen ist diese Annahme allerdings nur gerechtfertigt, solange innerhalb der Membran keine Entmischung der verschiedenen Lipid-Komponenten erfolgt. Entmischungsprozesse treten in Zwei- oder Mehrphasengebieten der Membran auf und erfolgen über die Nukleation und das Wachstum von kleinen Membrandomänen, in denen sich die Minoritätsphase ausbildet, siehe Abb. 3.

Die unterschiedliche Lipidzusammensetzung führt auf unterschiedliche elastische Eigenschaften von Membrandomäne und Membranmatrix. Außerdem stellt sich heraus, daß die Linienspannung der Domänengrenze ebenfalls einen starken Einfluß auf die Membranform ausübt: sobald die Domäne eine kritische Größe erreicht hat, ist es energetisch günstiger, eine stark gekrümmte Knospe zu bilden und dabei die Linienspannung abzubauen, siehe Abb. 3 [10]. Es gibt erste experimentelle Hinweise darauf, daß dieser Prozeß bei Membranen aus Phospholipiden und Cholesterol auftritt [11].

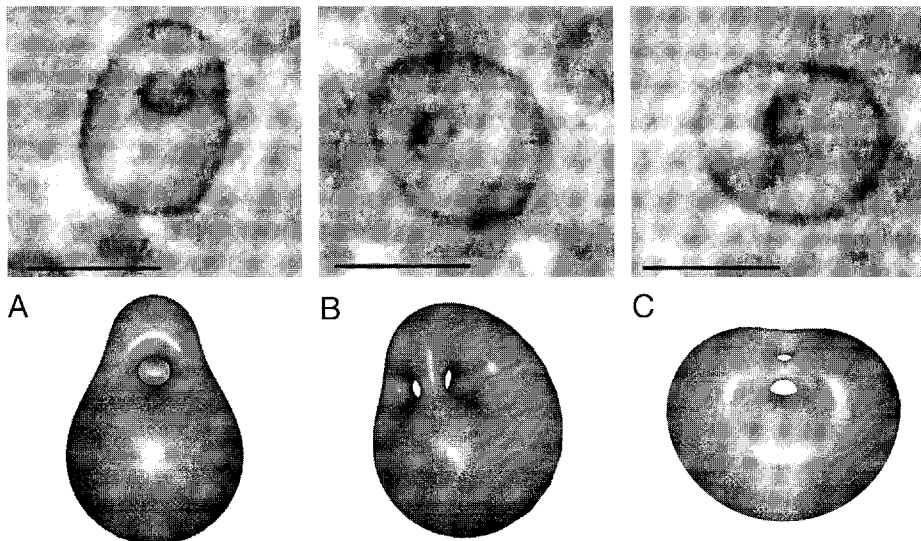


Abb. 2: Eine Vesikel mit zwei Henkeln durchläuft aufgrund von thermischen Fluktuationen eine stetige Folge von konformen Transformationen. Schnappschüsse (oben) von experimentell beobachteten Formen, die jeweils ca. 30 s auseinanderliegen (mit freundlicher Genehmigung von X. Michalet), entsprechen den theoretisch vorhergesagten Minimalformen A, B und C [6]. Die Länge des Balkens beträgt 10 μm .

Wechselwirkende Membranen

Die Präparation von Lipidsuspensionen führt häufig auf Strukturen, die aus mehreren Doppelschichtmembranen bestehen: multilamellare „Zwiebel“-Vesikeln oder Liposomen; multilamellare Zylinder oder „Myelin“-Strukturen; orientierte Membranstapel und Membranbündel usw. Außerdem haften die Membranen an makroskopischen Grenzflächen (Gefäßwand, Wasseroberfläche). Diese Systeme können mit verschiedenen experimentellen Methoden untersucht werden, insbesondere mit optischer Mikroskopie sowie mit Röntgen- bzw. Neutronenstrommethoden [1].

Adhäsion von Vesikeln: Membranen können aufgrund äußerer Kräfte an anderen Grenzflächen haften. Ein Beispiel sind Vesikeln, die mit einer Zuckerlösung gefüllt sind und die aufgrund der Schwerkraft auf die untere Gefäßwand absinken [12].

Die Adhäsion von Vesikeln kann auch durch die Kräfte zwischen Vesikelmembran und Grenzfläche induziert werden. Diese Kräfte haben eine Reichweite, die sehr viel kleiner als die Vesikelgröße ist. Man kann diese Kräfte deshalb summarisch durch ein Kontaktpotential mit der effektiven Potentialstärke $|W|$ beschreiben. Da die adherierende Membran stärker gekrümmt ist als die freie Membran, haftet die Vesikel mit Oberfläche \mathcal{A} erst, wenn die Stärke $|W|$ des Kontaktpotentials den Schwellenwert $|W_a| = w_a \kappa / \mathcal{A}$ übersteigt [13]. Der dimensionslose Koeffizient w_a hängt von dem reduzierten Volumen $\mathcal{V} / \mathcal{A}^{3/2}$ ab und ist von der Ordnung eins. Um die effektive Stärke $|W|$ des Kontaktpotentials abzuschätzen, muß man die molekularen und entropischen Kräfte, die in der Kontaktfläche wirken, genauer betrachten.

Molekulare Kräfte: Zwischen zwei rigiden Flächen im Abstand ℓ wirken verschiedene

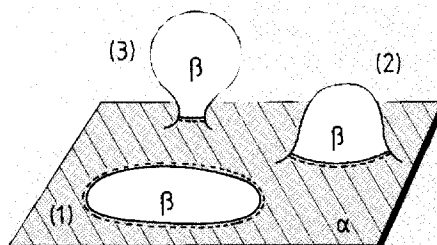
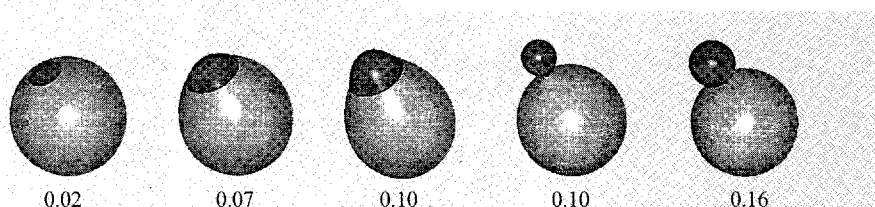


Abb. 3: In mehrkomponentigen Membranen können sich z. B. durch Phasentrennung Domänen unterschiedlicher Zusammensetzung ausbilden, die sich zu Knospen verformen: (links) Die Domäne β einer flachen Membranmatrix α durchläuft die Zustände (1) bis (3), sobald die Domäne eine kritische Größe erreicht hat; (unten) Minimalformen einer Vesikel mit dunkler Domäne, deren relative Fläche X von 0.02 bis 0.16 variiert. Die Knospung tritt bei $X = 0.1$ auf.



molekulare Kräfte [1]. Die zugehörigen Wechselwirkungspotentiale $V(\ell)$ kann man aufgrund ihres funktionalen Verlaufs in mehrere Klassen einteilen: (i). Das Potential ist rein repulsiv. Dann können gebundene Zustände nur durch äußere Kräfte wie durch Schwerkraft oder osmotischen Druck zusammengehalten werden; (ii) $V(\ell)$ besteht aus einem kurzreichweitigen repulsiven Teil und einem attraktiven Potentialtrog; und (iii) $V(\ell)$ hat zusätzlich noch eine repulsive Potentialbarriere bei größeren Abständen.

Einfachheitshalber werde ich mich hier auf den Fall (ii) beschränken, der insbesondere für zwei wechselwirkende Membranen ohne elektrische Ladungen und ohne Makromoleküle auftritt: sie ziehen sich dann mittels attraktiven van-der-Waals-Kräften an und stoßen sich mittels repulsiven Hydrationskräften ab. Das zugehörige Potential $V(\ell)$ läßt sich direkt messen, wenn man die Membranen auf zwei gegenüberliegenden Glimmeroberflächen immobilisiert.

Formfluktuationen: Membranen in Lösung flimmern aufgrund thermischer Fluktuationen. Derartige Formfluktuationen treten auch in der Kontaktfläche einer Vesikel auf, die an einer Oberfläche haftet, siehe Abb. 4 [14]. An den Interferenzbildern in dieser Abbildung kann man direkt erkennen, daß die Fluktuationen um so ausgeprägter sind, je schwächer die Membran an die Oberfläche gebunden ist.

Die Fluktuationen, die mittels Reflexions-Interferenz-Mikroskopie wie in Abb. 4 beobachtet werden, stellen Undulationen oder Krümmungsmoden dar. Die kleinsten Wellenlängen, die sich auf diese Weise auflösen lassen, sind von der Größenordnung der

Lichtwellenlänge, d. h. ca. $0,5 \mu\text{m}$. Undulationen oder Krümmungsmoden sollten aber auch auf kleineren Wellenlängen bis hinunter zu einer mikroskopischen Längenskala angeregt werden.

Adhäsions- und Entbindungsübergänge:

Die Undulationen oder Krümmungsmoden liefern einen entropisch induzierten Beitrag zur Wechselwirkung der Membranen [15]. Da die Wellenlänge der Undulationen über mehrere Größenordnungen variiert, hängt die effektive Wechselwirkung zwischen zwei Membransegmenten von deren Größe ab: Kleine Membransegmente spüren im wesentlichen die molekularen Wechselwirkungen, die durch das Potential $V(\ell)$ beschrieben werden, während für größere Membransegmente der Beitrag der Undulationen immer wichtiger wird und zu einer Renormierung von $V(\ell)$ führt. Falls das Potential $V(\ell)$ einen attraktiven Potentialtrog hat, dann führt diese Renormierung durch die Formfluktuationen auf einen Adhäsions- oder Entbindungsübergang [16].

Der attraktive Potentialtrog sei durch die Reichweite ℓ_v und die Potentialtiefe $|U|$ gekennzeichnet. Dann tritt der Phasenübergang bei der Entbindungstemperatur $T_u \approx \ell_v \sqrt{|U| \kappa}$ auf. Bei Annäherung an diese Temperatur wächst der Abstand ℓ stetig an wie $\ell \sim 1/|T - T_u|$ und die Tiefe des renormierten Potentialtrogs verschwindet gemäß $V_{ren}(\ell) \sim -|T - T_u|^2$. Dieses kritische Verhalten hat große Ähnlichkeit mit dem Verhalten von Benetzungsübergängen in zwei Dimensionen.

Für die Parameterwerte $\ell_v \approx 2 \text{ nm}$ und $\kappa \approx 10^{-19} \text{ J}$ ist T_u von der Größenordnung der Raumtemperatur, falls $|U| \approx 4 \times 10^{-2}$

mJ/m^2 gilt. Einerseits erzeugen die van-der-Waals-Kräfte zwischen neutralen Phospholipid-Membranen in Wasser typischerweise einen relativ tiefen Potentialtrog mit $|U| \approx k_B T / \ell_v^2 \approx 1 \text{ mJ/m}^2$, der die Membranen bei Raumtemperatur bindet [17]. Andererseits läßt sich der attraktive Anteil von $V(\ell)$ durch elektrostatische Kräfte abschwächen sowie für polymer-induzierte Adhäsion einstellen, siehe unten.

Entbindung von Vesikeln: Auch die Adhäsion von großen Vesikeln wird durch die thermisch angeregten Formfluktuationen der Kontaktfläche abgeschwächt. Wenn man die Stärke $|W|$ des Kontaktpotentials mit der Tiefe $|V_{ren}(\ell)|$ des renormierten Potentialtrogs identifiziert, so ergibt sich die Entbindungstemperatur $T_u^{ves} \approx T_u - c\kappa\ell_v/\mathcal{A}^{1/2}$ für große Vesikeln mit $\mathcal{A} \gg \kappa/|U|$.

Im Prinzip spüren die Formfluktuationen der Vesikel eine effektive laterale Spannung, da die „Überschußfläche“, die in diesen Fluktuationen steckt, ein endliches Flächenreservoir darstellt. Diese Spannung sollte allerdings von der Größenordnung κ/\mathcal{A} und damit so klein sein, daß sie die Entbindungstemperatur T_u^{ves} nicht merklich beeinflusst [13]. Diese Erwartung wird durch eine selbstkonsistente Rechnung bestätigt [18].

Quellverhalten von Membranstapeln: Wie erwähnt bilden sich in Lipidsuspensionen häufig Stapel oder Bündel von Membranen. Ein Beispiel von acht adherierenden Membranen aus Glykolipiden ist in Abb. 5 gezeigt [19]. Für diesen Stapel und für andere Stapel, die aus zwei bis zwanzig Membranen bestanden, wurde ein Entbindungsübergang bei einer Temperatur von ca. 22°C beobachtet.

Theoretisch findet man für frei suspendierte Stapel aus identischen Membranen einen einzigen Übergang, wobei die Übergangstemperatur *nicht* von der Anzahl N der Membranen abhängt [20]. Allerdings quillt das Bündel außen schneller als innen. Deshalb wird der Temperaturbereich, für den sich die Fluktuationen bemerkbar machen, mit wachsendem N immer kleiner und die Entbindung läuft für große N sehr abrupt und scheinbar unstetig ab.

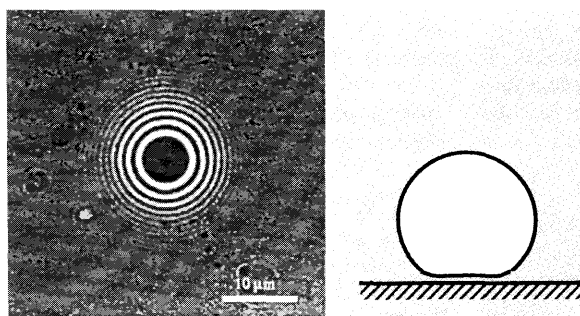


Abb. 4: Interferenzbilder von adherierenden Vesikeln: (links) Stark gebundene Vesikel ohne sichtbare Formfluktuationen; (unten) schwach gebundene Vesikel mit ausgeprägten Fluktuationen. (Mit freundlicher Genehmigung von J. Rädler und E. Sackmann)

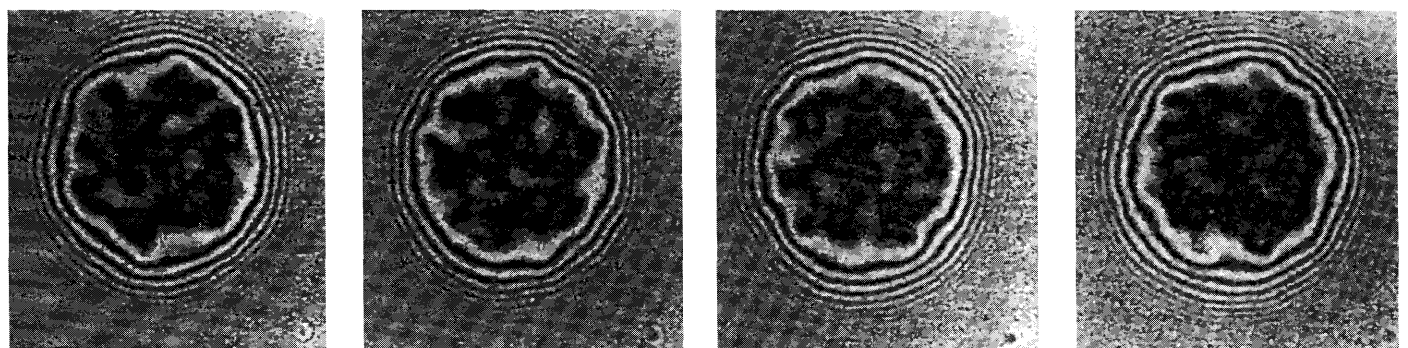




Abb. 5: Entbindungsübergänge von acht Glykolipidmembranen. Links: Gebundener Zustand, der den scharfen, dunklen Linien entspricht; rechts: ungebundener Zustand, der durch starke Membranfluktuationen gekennzeichnet ist. Der Balken entspricht 10 μm . (Mit freundlicher Genehmigung von W. Helfrich.)

Ein Stapel von N Membranen, der an einer rigiden Grenzfläche relativ fest haftet, „schält“ sich dagegen sukzessive von dieser Grenzfläche ab: In diesem Fall gibt es N verschiedene Entbindungstemperaturen, an denen sich jeweils die äußerste Membran des gebundenen Stapels ablöst [20]. Es ist bemerkenswert, daß die Grenzfläche das Verhalten der äußeren Membranen selbst dann beeinflusst, wenn sich dazwischen viele andere Membranen befinden.

Dekorierte Membranen

Eine Biomembran stellt ein komplexes Verbundsystem aus Lipid-Doppelschicht und Makromolekülen dar. Diese Makromoleküle ragen aus der Doppelschicht heraus und steuern die vielfältigen Wechselwirkungen zwischen der Biomembran und ihrer Umgebung. Insbesondere dienen Makromoleküle als Anker für das Zellskelett und für die extrazelluläre Matrix, zwei Netzwerke, die aus relativ steifen Filamenten bestehen. Einige Aspekte dieses Verbundsystems kann man in Lipid-Doppelschichten, die mit Polymeren „dekoriert“ sind, studieren.

Adsorbierte Polymere: Es gibt verschiedene Möglichkeiten, ein einzelnes Polymer an einer Membran anzuheften. Adsorption tritt auf, wenn alle Monomere des Polymers von der Membran angezogen werden. Schwache Adsorption führt zu einem locker gebundenen Knäuel, bei dem nur ein Bruchteil der Monomere direkt mit der Membran in Kontakt ist. Sehr starke Adsorption führt dagegen zu Zuständen, bei denen alle Monomere des Polymers an die Membran gebunden sind. Ähnliche Zustände erhält man durch Polymerisation von Lipidmolekülen in der Doppelschicht; in diesem Fall ist das Polymer in eine (oder beide) Monoschichten der Doppelschicht eingebettet.

Verankerte Polymere: Die Natur benutzt

zur Anheftung von Makromolekülen an Membranen Anker, d. h. hydrophobe Segmente, deren Größe an die Lipid-Doppelschicht angepaßt ist. Die Verankerung eines Modellpolymers läßt sich z. B. durch ein Lipidmolekül erreichen, das kovalent mit einem Ende des Polymers verbunden ist [21]. Anstelle des Lipidankers kann man das Polymer auch mit einem anderen hydrophoben Segment versehen. Interessant wären Blockcopolymere mit einem entsprechenden hydrophoben Block. Eine weitere Möglichkeit der Verankerung besteht darin, die Polymere mit hydrophoben Seitengruppen zu versehen (sogenannte Pfropfcopolymere) [22]. Mit zunehmender Dichte der Anker erhält man auf diese Weise gebundene Zustände, die denen von adsorbierten Polymeren ähnlich sind.

Polymerinduzierte Krümmung: Ein Polymer, das mit einem einzelnen Anker an eine Membran angeheftet ist, hat weniger Konfigurationsentropie als ein freies Polymer. Die Entropie des verankerten Zustands hängt allerdings von der Form der Membran ab: Das Polymer kann seine Entropie vergrößern, wenn sich die Membran so krümmt, daß dem Polymer mehr Raum zur Verfügung steht, siehe Abb. 6. Das Polymer übt deshalb entropische Kräfte auf die Membran aus, die zu einer „spontanen“ Krümmung der Membran führen [23].

Als einfachstes Beispiel betrachten wir ein lineares flexibles Polymer aus N Monomeren. Im ungebundenen Zustand bildet dieses Polymer ein Knäuel mit der linearen Größe $R_{po} \approx aN^\nu$, wobei a die Monomergröße ist. Der kritische Exponent ν hängt von der Löslichkeit der Polymere ab; für gut lösliche Polymere gilt $\nu \approx 3/5$. Wenn man ein derartiges Polymer mit einem Ende an der Membran verankert, dann bildet es einen Pilz, der in dem angrenzenden Membransegment die „spontane“ Krümmung $M_{sp} \sim T/\kappa R_{po}$ induziert. Interessanterweise dreht sich das Vor-

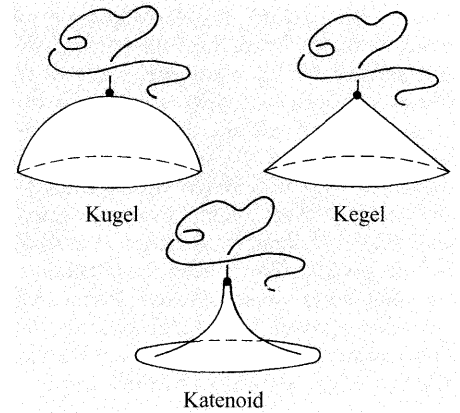


Abb. 6: Ein Polymer, das an einem Membransegment verankert ist, bildet einen Pilz, der die Membran durch entropische Kräfte krümmt (drei Beispiele).

zeichen dieser polymer-induzierten Krümmung um, sobald die Monomere des Pilzes an die Membran adsorbiert werden.

Pilze und Bürsten: Einzelne isolierte Pilze krümmen Membransegmente der Größe $\sim R_{po}$. Falls man die Ankerkonzentration soweit erhöht, daß die Pilze die Membran gerade völlig bedecken, dann hat die gesamte Membran die polymer-induzierte Krümmung M_{sp} . Diese Krümmung ist um so größer, je kleiner das Polymer ist (solange $R_{po} \gg a$ gilt).

Für Bedeckungen oberhalb der Überlappungsbedeckung beginnen die Pilze, sich gegenseitig zu behindern. Die verankerten Polymere werden dann gestreckt und bilden Bürstenzustände. Bei weiterer Erhöhung der Ankerkonzentration nimmt die „spontane“ Krümmung weiter zu, und gleichzeitig wird die Biegesteifigkeit der Membran durch die Bürste vergrößert [24]. Schließlich erreicht man eine maximale Bedeckung, bei der die Verankerungsenergie gerade noch ausreicht, um den Entropieverlust aufgrund des gestreckten Zustands der Polymere auszugleichen.

Polymer-induzierte Adhäsion: Die Adhäsion von Zellmembranen beruht auf stäbchenartigen Molekülen mit einer Länge von 10–30 nm. Ohne diese lokalen Haftstellen wäre die Wechselwirkung zwischen den Zellmembranen repulsiv, da diese Membranen elektrisch geladen sind und die elektrostatische Abstoßung die Anziehung aufgrund der van-der-Waals-Kräfte überwiegt.

Es erscheint naheliegend, für die Adhäsion von Modellmembranen lineare Polymere zu verwenden, die an beiden Enden einen Membrananker besitzen, siehe Abb. 7. Für zwei Membranen mit *identischer* chemischer Zusammensetzung muß man zunächst erreichen, daß jeweils ein Anker in einer der beiden Membranen steckt. Tatsächlich heft-

tet sich ein *flexibles* Polymer aus entropischen Gründen bevorzugt mit beiden Anker an dieselbe Membran, siehe Abb. 7(a). Dieser entropische Effekt wird durch die Biegeenergie und die damit verbundene Biegeenergie des Polymers unterdrückt, siehe Abb. 7(b). Eine andere Möglichkeit ergibt sich für zwei Membranen mit unterschiedlicher Zusammensetzung: wie in Abb. 7(c) dargestellt, führen heterogene Bindungen aus zwei verschiedenen Polymeren (oder „Rezeptoren“) zur Adhäsion, falls die Konzentration der beiden Polymere in den beiden Membranen unterschiedlich ist.

Kritische Ankerkonzentration: Da die Adhäsionspolymere lokale Haftstellen erzeugen, hängt die Stärke der Adhäsion von der Konzentration der Polymeranker in den Membranen ab, die effektive Potentialtiefe $|U_{\text{eff}}|$ der polymer-induzierten Anziehungskräfte nimmt mit wachsender Ankerkonzentration p zu. Die Entbindungstemperatur T_u , die proportional zu $\sqrt{U_{\text{eff}}}$ ist, läßt sich deshalb durch Variation von p verändern und insbesondere auf die Raumtemperatur einstellen. Andererseits gibt es bei fester Temperatur eine kritische Ankerkonzentration p_u , so daß die Membranen für $p > p_u$ gebunden und für $p \leq p_u$ ungebunden sind.

Der einfachste Fall ergibt sich für mobile Anker, die in der Membran diffundieren können und deren effektive Wechselwirkung innerhalb ein und derselben Membran repulsiv ist. Für diese Situation gilt $T_u \sim \sqrt{p}$ für kleine p . Falls sich die Anker innerhalb der Membran anziehen, so kann es zu einer Phasentrennung in polymerreiche Domänen mit $p > p_u$ und polymerarme Domänen mit $p < p_u$ kommen. Dann besteht die Kontaktfläche der Membranen aus den polymerreichen Domänen.

Zusammenfassung und Ausblick

Ich habe hier drei verschiedenartige Membransysteme diskutiert: freie, wechselwirkende und dekorierte Membranen. Für diese Systeme sagt die Theorie neuartige kooperative Phänomene vorher, die auch experimentell zugänglich sind.

Systematische Experimente wurden vor allem an *freien* Membranen durchgeführt, siehe Abb. 1 und 2. Dabei wurden die theoretischen Konzepte im großen und ganzen experimentell bestätigt. Insbesondere wurde der neuartige Prozeß der konformen Diffusion auch experimentell mittels Phasenkontrastmikroskopie beobachtet, siehe Abb. 2. Eine detaillierte experimentelle Überprüfung der theoretischen Vorhersagen für *wechselwirkende* Membranen steht dagegen noch aus. Zur Untersuchung der interessanten Fluktuationseffekte ist es notwendig, Membranen mit verhältnismäßig schwachen

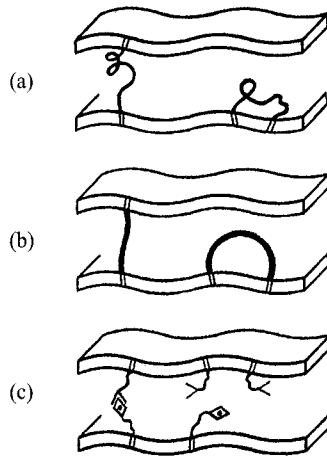


Abb. 7: Zwei Membranen, die durch verankerte Polymere miteinander verbunden sind: (a) flexible und (b) wurmartige Polymere sowie (c) zwei verschiedene Polymere oder „Rezeptoren“, die zu heterophilen Bindungen führen.

attraktiven Kräften zu präparieren. Die fluktuationgetriebenen Phasenübergänge lassen sich dann mittels Reflexions-Interferenz-Mikroskopie an Vesikeln bzw. mittels Streumethoden an Membranstapeln untersuchen. Ähnliche experimentelle Methoden können auch zur Untersuchung von *dekorierten* Membranen herangezogen werden, für die es bisher noch keine quantitativen Messungen gibt.

Die Membranphysik, die hier diskutiert wurde, stellt nur eine Facette der Membranforschung dar. Daneben gibt es sehr viele Aktivitäten, bei denen chemische, biologische oder medizinische Gesichtspunkte im Vordergrund stehen. Diese Forschungsanstrengungen sind einerseits darauf ausgerichtet, die komplexe Struktur und die vielfältigen Funktionen von biologischen Membranen aufzuklären. Andererseits dient die Architektur dieser Biomembranen z.B. in der pharmazeutischen, kosmetischen und Nahrungsmittel-Industrie als Vorbild für den Aufbau von künstlichen Membransystemen mit maßgeschneiderten Eigenschaften. Zwei aktuelle Beispiele für medizinische Anwendungen sind mit Polymeren dekorierte Vesikeln als Mikrobehälter, die von den Abwehrzellen des Immunsystems nicht erkannt werden, sowie stark verformbare Vesikeln als Transportsysteme, die direkt durch die Haut ins Blut gelangen.

Die Komplexität der natürlichen und künstlichen Membranen macht einen interdisziplinären Forschungsansatz notwendig. Der Physik kommt dabei die Rolle zu, ein tieferes und quantitatives Verständnis dieser Systeme zu entwickeln. Nur durch das Wechselspiel von kontrolliertem Experiment und systematischer Theorie lassen sich die allgemeinen Gesetzmäßigkeiten finden, die das Verhalten der Membranen bestimmen.

Literatur

- [1] *The Structure and Dynamics of Membranes*, Vol. 1 of *Handbook of biological physics*, hrsg. von R. Lipowsky u. E. Sackmann (Elsevier, Amsterdam, 1995).
- [2] R. Lipowsky, *Morphology of lipid membranes*, *Current Opinion in Structural Biology* **5**, 531 (1995).
- [3] G. Gompper u. D. Kröll, *Phys. Blätter* **50**, 557 (1994).
- [4] K. Berndt, J. Käs, R. Lipowsky, E. Sackmann u. U. Seifert, *Europhys. Lett.* **13**, 659 (1990).
- [5] W. Wintz, H. Döbereiner u. U. Seifert, *Europhys. Lett.* (im Druck).
- [6] F. Jülicher, U. Seifert u. R. Lipowsky, *Phys. Rev. Lett.* **71**, 452 (1993).
- [7] W. Helfrich, *Z. Naturforsch.* **28c**, 693 (1973); P. Canham, *J. Theoret. Biol.* **26**, 61 (1970); E. Evans, *Biophys. J.* **14**, 923 (1974).
- [8] U. Seifert, *Configurations of fluid membranes and vesicles*, *Adv. Phys.* (im Druck).
- [9] X. Michalet u. D. Bensimon, *Science* **269**, 666 (1995).
- [10] R. Lipowsky, *J. Phys. II France* **2**, 1825 (1992); F. Jülicher u. R. Lipowsky, *Phys. Rev. Lett.* **70**, 2964 (1993).
- [11] H. G. Döbereiner, J. Käs, D. Noppl, I. Sprenger u. E. Sackmann, *Biophys. J.* **65**, 1396 (1993).
- [12] M. Kraus, U. Seifert u. R. Lipowsky, *Europhys. Lett.* **32**, 431 (1995).
- [13] U. Seifert u. R. Lipowsky, *Phys. Rev. A* **42**, 4768 (1990).
- [14] J. Rädler, T. Feder, H. Strey u. E. Sackmann, *Phys. Rev. E* **51**, 4526 (1995).
- [15] W. Helfrich, *Z. Naturforsch.* **33a**, 305 (1978).
- [16] R. Lipowsky u. S. Leibler, *Phys. Rev. Lett.* **56**, 2541 (1986).
- [17] W. Fenzl, *Z. Physik B* **97**, 333 (1995).
- [18] U. Seifert, *Phys. Rev. Lett.* **74**, 5060 (1995).
- [19] M. Mütz u. W. Helfrich, *Phys. Rev. Lett.* **62**, 2881 (1989).
- [20] R. Netz u. R. Lipowsky, *Phys. Rev. Lett.* **71**, 3596 (1993); C. Hiergeist, M. Lässig u. R. Lipowsky, *Europhys. Lett.* **28**, 103 (1994); R. Lipowsky, *Z. Physik B* **97**, 193 (1995).
- [21] G. Blume u. G. Cevc, *Biochim. Biophys. Acta* **1029**, 91 (1990); D. Lasic, *Angew. Chem.* **106**, 1765 (1994).
- [22] J. Simon, M. Kühner, H. Ringsdorf u. E. Sackmann, *Chem. Phys. Lipids* **76**, 241 (1995).
- [23] R. Lipowsky, *Europhys. Lett.* **30**, 197 (1995).
- [24] C. Hiergeist u. R. Lipowsky, *J. Phys. II France* (eingereicht).