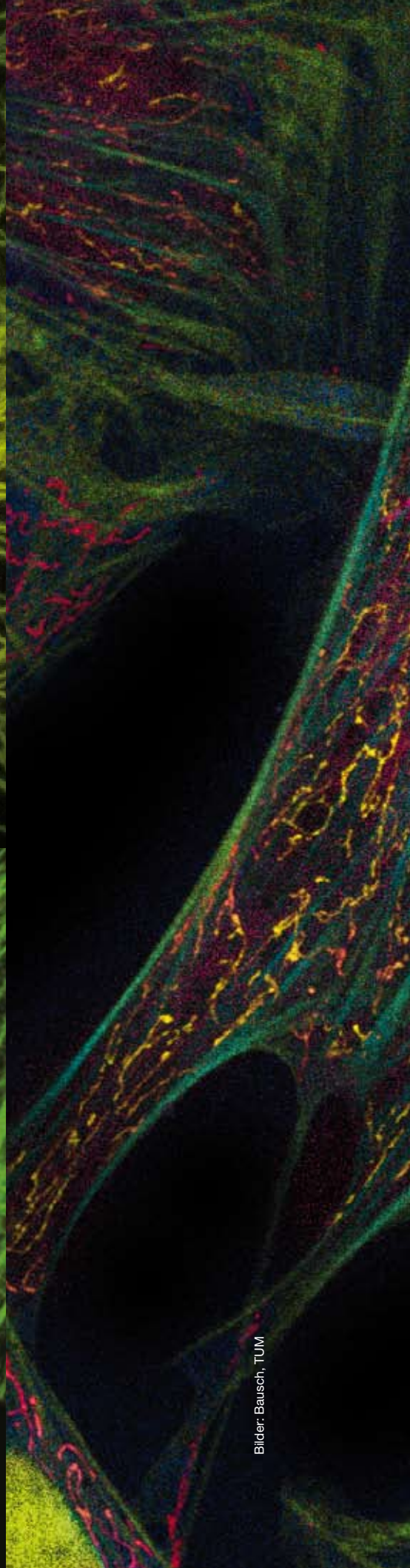
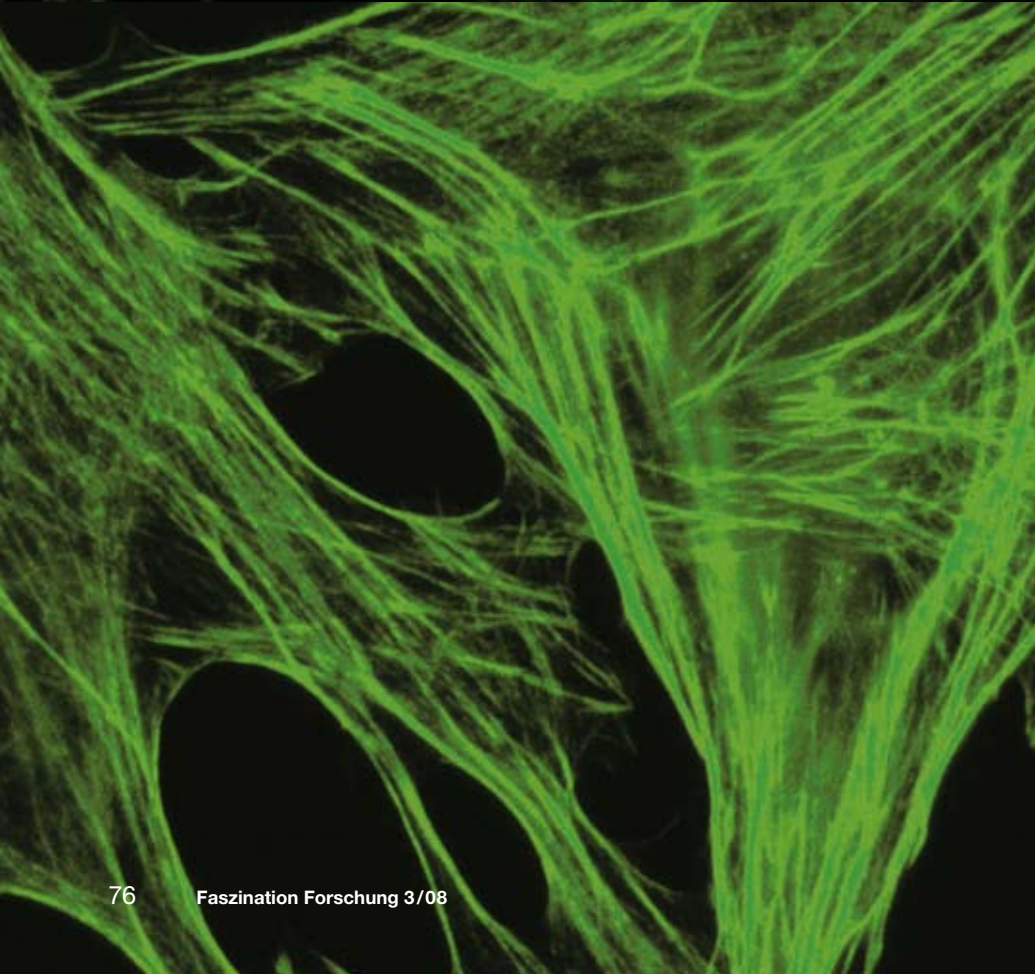
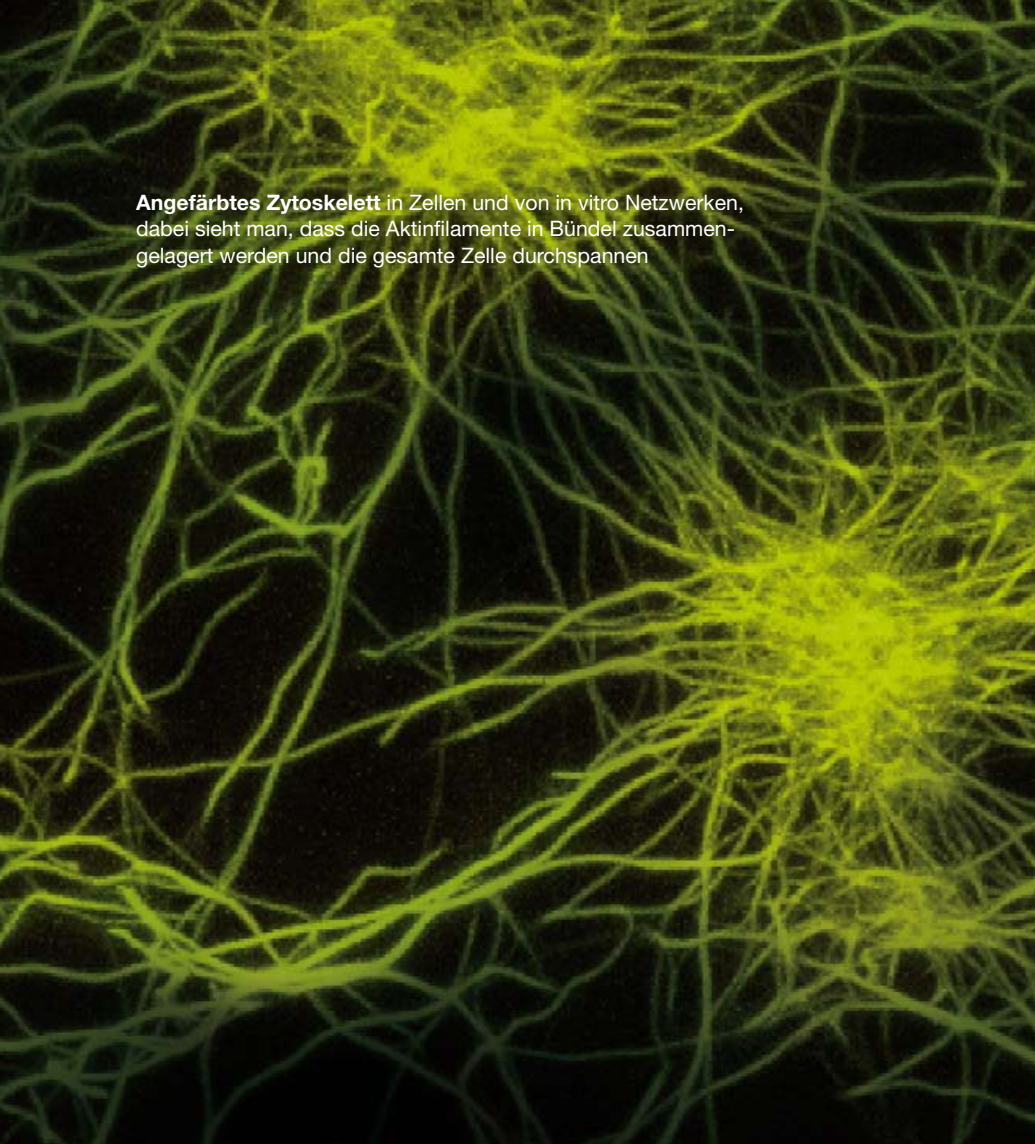


Angefärbtes Zytoskelett in Zellen und von in vitro Netzwerken, dabei sieht man, dass die Aktinfilamente in Bündel zusammengelagert werden und die gesamte Zelle durchspannen



Bilder: Bausch, TUM

Link

www.E27.Physik.TU-Muenchen.de

Zellen in Bewegung

Auch Zellen haben ein Skelett. Ein Geflecht aus Proteinen verleiht ihnen Gestalt und Beweglichkeit. Doch die Dynamik dieses Gerüsts macht seine Erforschung schwierig. Biophysiker der TUM sind den unbekanntem Mechanismen auf der Spur

Drei, vier Mausclicks, und auf dem Monitor startet der Schwarz-weiß-Film. Vor dunklem Hintergrund wandern ein paar bleiche Flecken recht flott durchs Bild. Es sind Schleimpilze auf dem Weg zu einer Futterquelle. Die amöbenartigen Gesellen haben weder Knochen noch Muskeln, bewegen sich aber dennoch behände dahin. Das Geheimnis ihrer Mobilität: ein überaus flexibles Zellskelett, das sich unentwegt verändert.

Prof. Andreas Bausch klickt den Film wieder weg. Der 37-Jährige leitet im Physik-Department der TU München den Lehrstuhl für Biophysik und will mit seinem Team die physikalischen Grundlagen des Zellskeletts und dessen Dynamik aufklären.

Klebstoff für das Skelett der Zellen

Dieses Skelett ist ein Netzwerk aus verschiedenen steifen Proteinfasern, das die Zellen aller höheren Organismen wie ein Geflecht durchzieht. Wie steif und fest die einzelnen Fasern sind, hängt von ihrer Länge ab – je länger, desto weicher. Ein Klebstoff verbindet die Fasern in rasender Geschwindigkeit miteinander und löst sie sogleich wieder, verbindet und löst, verbindet und löst – der Wissenschaftler spricht davon, dass „die lokalen strukturellen und mechanischen Eigenschaften des Zellskeletts sehr schnell verändert werden“. Ergebnis ist ein äußerst bewegliches Gerüst, eine Art multifunktionaler, hoch dynamischer Proteinmuskel, von dem sich winzige Ärmchen ausstülpfen, rückbilden, erneut vorschieben, wieder verschwinden. Es entsteht eine fließende Bewegung, die zum Beispiel die Schleimpilze zu ihrer Mahlzeit befördert. Auch in unserem Körper läuft sie beinahe überall und ständig ab; die Mobilität unserer Zellen ermöglicht etwa die Wundheilung und die Bekämpfung von Infektionen, führt aber auch bei Krebsgeschwüren zu Metastasierungen.

Prominenter Protagonist in dem dynamischen Geschehen ist das Protein Aktin, das in vielen Zellen den Großteil der Gerüstelemente stellt. Seine stäbchenförmigen Filamente bestehen aus kugeligen Untereinheiten, die zu einem helixartig in sich gewundenen Polymerstrang aufgereiht sind. Sie werden mehrere Mikrometer lang und können damit sogar eine Zelle vollständig durchmessen. Solche Aktinfasern werden gitterartig miteinander verknüpft oder aber zu Bündeln zusammengefasst.

Das übernehmen Helferproteine, die wie Klebstoff wirken. Andere Helferproteine haben gerade die gegenteilige Aufgabe, verhindern das Verkleben. Wieder andere sorgen dafür, dass Verbindungen gelöst werden. „Insgesamt dürften rund 200 Helferproteine am ständigen Auf- und Abbau des Zellskeletts beteiligt sein. Bei vielen davon ist die Funktion noch gar nicht aufgeklärt“, schätzt Andreas Bausch. In perfekt abgestimmter konzentrierter Aktion sorgen die Moleküle dafür, dass zum richtigen Zeitpunkt die richtigen Fasern in der richtigen Anzahl gebündelt, die Bündel rasch wieder aufgelöst und immer wieder neu formiert werden.

Wie man sich den Aufbau der Aktinbündel vorzustellen hat, demonstriert Bausch an einem selbst gebastelten Modell aus Papierrollen – das sind die Filamente und Zahnstochern – sie geben den Kleber. Je 20 Aktinfäden sind zu einem hexagonalen Gitter miteinander verklebt. Um das Ganze überhaupt zu ermöglichen, wendet die Natur einen genialen Trick an: Bei helixartig verdrillten Fasern erfordert die hexagonale Anordnung sechs Kleber-Bindungsstellen für eine Umdrehung von 360 Grad. Rechnerisch müsste alle 60 Grad eine Bindestelle sitzen (360:6). Doch die Natur weicht davon ab, die Bindestellen auf den Filamenten passen eigentlich gar nicht auf so ein Gitter. Deshalb lassen sich die Fasern nur gegen einen gewissen Widerstand miteinander verknüpfen. Das erzeugt eine innere Spannung, die aufzubauen Bindungsenergie erfordert. Diese Balance zwischen Biochemie, Geometrie und Mechanik bestimmt die Bündeldicke. Ohne sie wären keine definierten Strukturen möglich – ein schönes Beispiel, wie die Natur imperfekte Geometrien verwendet, um perfekt definierte Strukturen entstehen zu lassen.

Alle Wissenschaften arbeiten zusammen

Überwacht wird der sich laufend ändernde Bauplan des Zellskeletts von biochemischen Vorgängen, die ihrerseits auf physikalisch-chemischen Prozessen basieren. Die Erforschung der zugrunde liegenden regulierenden Kräfte kann deshalb nur erfolgreich sein, wenn alle Disziplinen zusammenarbeiten. Ein Aspekt, den Bausch nachdrücklich betont: „Das ist eine enge Verzahnung. Physik, Chemie, Biologie und Biochemie greifen ineinander und helfen dabei, das Gesamtgeschehen aufzuklären.“ Hinzu kommt ein Umdenken in der Biologie: Lange

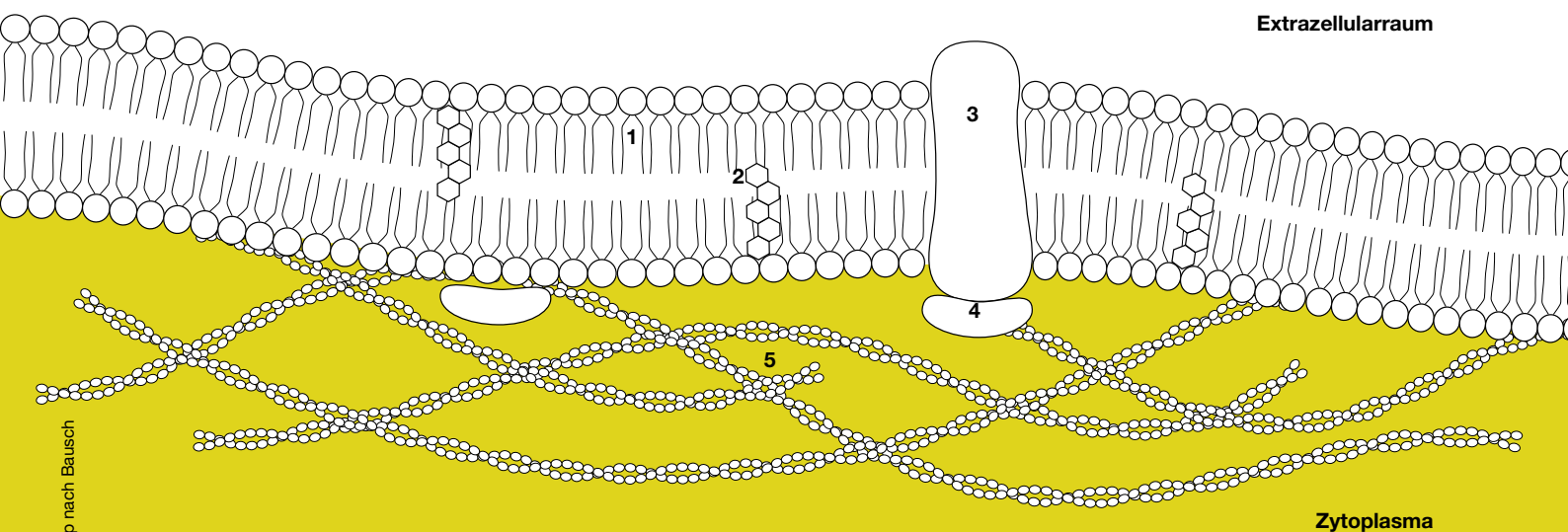
glaubten viele Biologen, biologische Vorgänge basierten ausschließlich auf (Bio-)Chemie. Doch immer deutlicher zeigt sich, dass der Physik eine herausragende Rolle dabei zukommt, die biologische Komplexität begreifbar zu machen. Die Grenzen zwischen Physik, Chemie und Biologie zerfließen zusehends. Immer neue Techniken und Konzepte müssen entwickelt werden, die es erlauben, tiefer und tiefer in die Grundlagen des Lebens einzudringen. Je weiter die Forscher bis zu molekularen, gar atomaren Details vordringen, desto weniger lassen sich neue Erkenntnisse in den Dimensionen nur einer Disziplin fassen.

Noch weiter greift das Spektrum der Fächer im Exzellenzcluster „Nanosystems Initiative Munich“ (NIM), in den die Arbeitsgruppe Bausch eingebunden ist. Dort sind auch Pharmazie, Medizin und Elektrotechnik ver-

treten. Ein gemeinsames Ziel ist es, von der Natur zu lernen und anhand der gewonnenen Einsichten miteinander verbundene und interagierende Netzwerke aus künstlichen Nanomodulen zu schaffen.

Das Wissen um die Arbeitsweise des Zellskeletts ist ein Baustein auf dem Weg dorthin. „Unser Problem dabei ist die ungeheure Komplexität biologischer Prozesse. Biologische Experimente liefern unendlich viel Information. Man muss deshalb – und kann heute – nach der ‚Bottom-up-Strategie‘ einzelne grundlegende Aspekte modulartig isolieren, mit modernen Methoden analysieren und übergeordnete Gesetzmäßigkeiten erkennen. Ohne eine derartige Vereinfachung sind systematische und quantitative Aussagen über die zugrunde liegenden physikalischen Parameter unmöglich zu erlangen. Wir bauen also funktionale Module des Zellskeletts nach ▶

- 1 Hydrophobe Anteile
- 2 Cholesterin
- 3 Integrales Protein
- 4 Peripheres Protein
- 5 Zytoskelettfilamente



Grafik: ecludsepp nach Bausch

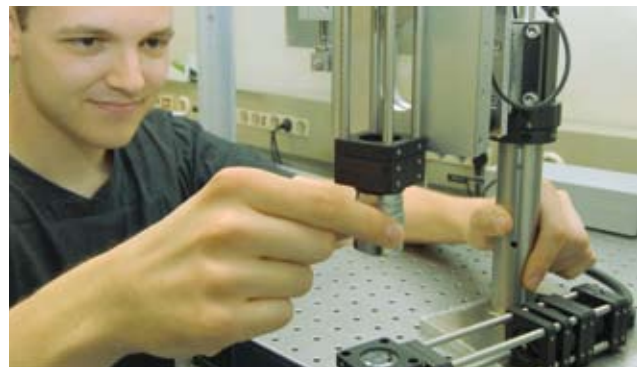
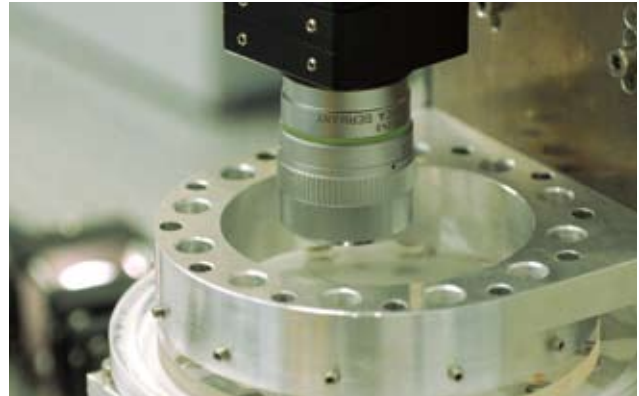
Schema des „Verbundsystems“ Zellmembran. Die Lipidmoleküle bilden eine zweidimensionale Flüssigkeit, die das Innere der Zelle von außen abtrennt, das Zytoskelett ist an die Membran verankert und verleiht der Zelle Form und Stabilität

und untersuchen sie – zum Beispiel die Fragen: Wie ist die Mechanik, welche Kräfte wirken wann, wo und wie stark? Haben wir die Module so weit erkannt, setzen wir sie schrittweise wieder zusammen und analysieren auch die immer komplexeren Teile des Puzzles. Schließlich überführen wir unsere Befunde in die Biologie und prüfen, ob wir in lebenden Zellen Entsprechendes finden“, erklärt Bausch und lobt die Bedingungen auf dem Forschungscampus Garching: „Hier ist die Biophysik bestens ausgebaut. Gemeinsam decken verschiedene Institute die gesamte Längenskala ab, von einzelnen Aminosäuren über Gruppen von Molekülen bis hin zur ganzen Zelle.“

Forschung in der kleinsten Dimension

Wenn der 37-Jährige lebhaft aus seiner Arbeit erzählt, klingt alles ganz einfach. Man vergisst die winzigen Dimensionen seiner wissenschaftlichen Welt, in der die einzelnen Bausteine nur wenige Nanometer groß sind und daher ausgeklügelte Techniken und äußerst exaktes Arbeiten erfordern. Zum Beispiel, wenn sein Team die Anzahl von Filamenten mithilfe eines hochauflösenden Mikroskops bestimmt: In einen Tropfen einer Öl-in-Wasser-Emulsion werden Aktinfilamente plus Kleb-Helferproteine gegeben. Da das Volumen des Tropfens bekannt ist, lässt sich „ganz einfach“ die Gesamtlänge und damit auch die Gesamtzahl der Nano-Filamente bestimmen.

„Bewegung messen wir, indem wir einfach nichts tun“, beschreibt Bausch das Vorgehen, wenn es um die Mobilität der Modellsysteme aus Kleber und Fasern geht. Zumindest muss für diese Arbeit mit dem Fluoreszenzmikroskop das Objekt erst einmal entsprechend vorbereitet werden. Dann warten die Forscher in der Tat ruhig ab und können die thermische Bewegung von wenigen Nanometern direkt beobachten. Daraus berechnen sie die Steifigkeit der Fasern, die Rückschlüsse zulässt auf die Menge des beteiligten Klebers: Je steifer, desto mehr Kleber. Die maximale Steifigkeit ist erreicht, wenn alle Andockstellen für die Klebeproteine – von denen jedes eigene hat – besetzt sind. „Das kann man sich vorstellen wie bei einem Stapel Papier“, erklärt Bausch. „Liegen die einzelnen Seiten lose aufeinander, können



Um den Effekt von mechanischen Kräften auf die Zelldifferenzierung zu beobachten, werden die Zellen zwischen zwei Plexiglasscheiben wenige Nanometer genau verschert. Anschließend wird untersucht, welche Gene aktiviert bzw. deaktiviert werden. Damit kann untersucht werden, wie Zellen auf mechanische Stimulationen reagieren, was für das Verständnis vieler physiologischer Prozesse von Bedeutung ist

sie aneinander vorbei gleiten, der Stapel bleibt beweglich und lässt sich biegen. Sind die Seiten aber verklebt, bilden sie einen kompakten, kaum biegbaren Block.“ Zudem hängt es von der Beschaffenheit des jeweiligen Klebers ab, ob eher weiche, flexible Bündel entstehen oder steife. Bei Prozessen wie der Zellwanderung geben feste Bündel den sich ausstülpenden Ärmchen die notwendige Stabilität zum Vorwärtkommen.

Wie reagieren Zellen auf Bewegungs-Stress?

Die Biophysiker nutzen alles aus, was sie ihrem Ziel irgendwie näher bringen könnte, jede Technik und jeden Apparat. Röntgenstrukturanalysen an der European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) in Grenoble gehören ebenso dazu wie Rasterkraft-, Elektronen- und Fluoreszenzmikroskopie. Gibt es kein geeignetes Instrument, bauen sie es sich kurzerhand selbst. Mit so einer Vorrichtung Marke Eigenbau lassen sie zum Beispiel Scherkräfte auf Zellen einwirken: Sie legen zwei runde Plexiglasscheiben aneinander und platzieren zwischen ihnen ihre Testzellen. Bewegen sich die Scheiben wie ein Mahlwerk gegeneinander, müssen die Zellen Scher-

kräfte aushalten. Anschließend wird molekularbiologisch untersucht, welche Gene die Zellen daraufhin aktivieren, welche Proteine sie bilden, um dem mechanischen Stress zu begegnen. Zum Beispiel könnten sie vermehrt ein besonders zähes Klebstoffprotein herstellen, um eine größere Stabilität zu erlangen.

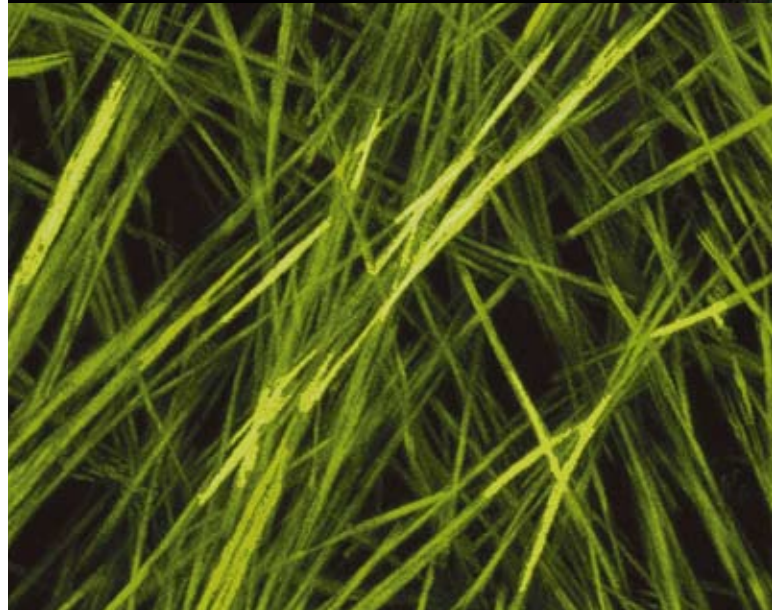
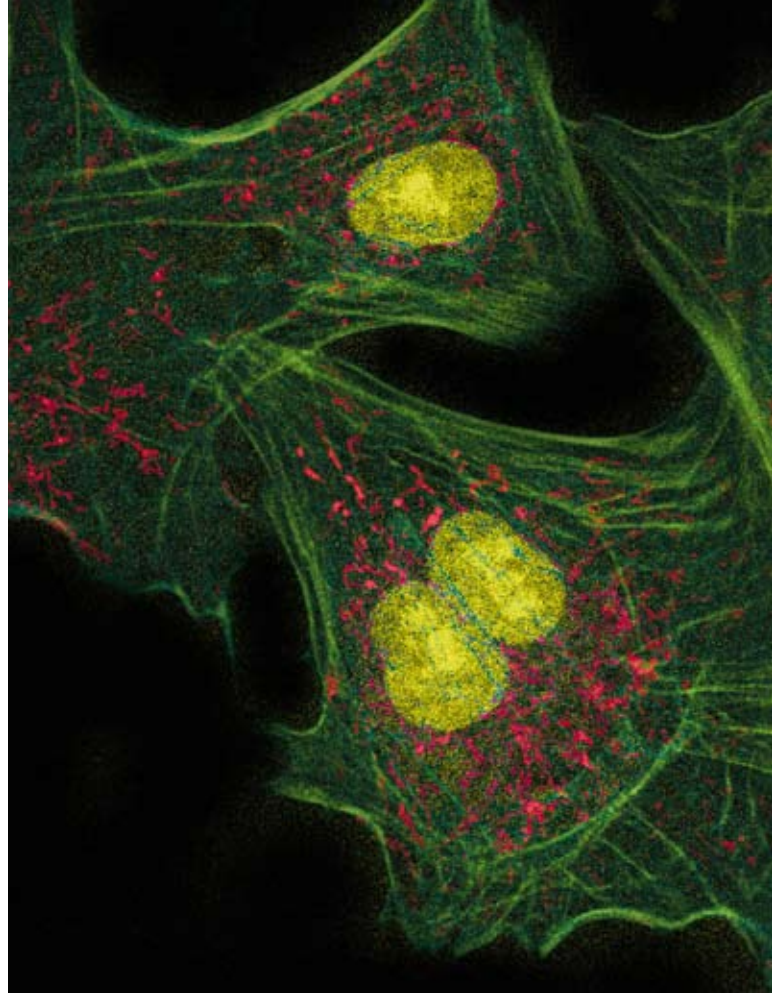
In der nächsten Zeit will Bausch sich „einer sehr spannenden Frage“ widmen, die ein neues Licht auf das Verhältnis von Zellskelett und Mechanik wirft: Es gibt Hinweise, dass Zellen nicht nur mechanische Kraft erzeugen, sondern auch auf äußere mechanische Reize reagieren. Offenbar leiten sie aus der Beschaffenheit ihrer direkten Umgebung ab, welche Art von Zellen sie sind bzw. werden sollen. An bestimmten Stammzellen hat man beobachtet, dass sie sich abhängig von der Härte ihrer Umgebung zu unterschiedlichen Zelltypen entwickeln. Auf weichem Untergrund werden sie zu Nervenzellen, auf hartem aber zu neuronalen Stützzellen. Solche Erkenntnisse, prophezeit Bausch, werden sämtliche Anstrengungen zur Herstellung von Implantaten oder künstlichen Organen („tissue engineering“) komplett revolutionieren.

Das Ziel: Mehr über die Zelle erfahren

Nicht nur dieses Beispiel macht klar, welche Bedeutung die Kenntnis über Funktion und Regulierung des Zellskeletts für die Medizin hat. Bei so gut wie jedem zellulären Prozess, bei jedem Krankheitsbild spielt das Zytoskelett eine herausragende Rolle. Deshalb gibt es vielfältige Bestrebungen, die Funktionsweise des Zellskeletts zu verstehen und zu beeinflussen. Aber auch Bereiche wie Nanotechnologie und Biotechnologie profitieren von der Erforschung dessen, was die Zelle im Innersten zusammenhält.

Noch aber sind konkrete Anwendungen Zukunftsmusik. Andreas Bausch, ganz nüchterner Wissenschaftler, dämpft vorschnelle Hoffnungen: „Was wir machen, ist Grundlagenforschung. Wir stehen erst am Anfang und beginnen allmählich, die Vorgänge zu verstehen. Auch wenn beispielsweise medizinische Anwendungen auf der Hand liegen, werden noch viele Jahre vergehen, bis unsere Erkenntnisse medizinisch umgesetzt werden können.“

Sibylle Kettembeil



Oben: Zellskelett überspannt die gesamte Zelle, Mitochondrien und Zellkern sind ebenfalls angefärbt. In vitro kann die Bündelbildung beobachtet werden, es bilden sich Netzwerke aus Bündeln mit einer sehr scharf verteilten Dickenverteilung. Diese ist auf geometrische Packungsconstraints und mechanische Torsionsenergien zurückzuführen