

Physik der Zelladhäsion

Physikalische Kräfte tragen wesentlich zum strukturellen Zusammenhalt unseres Körpers bei.

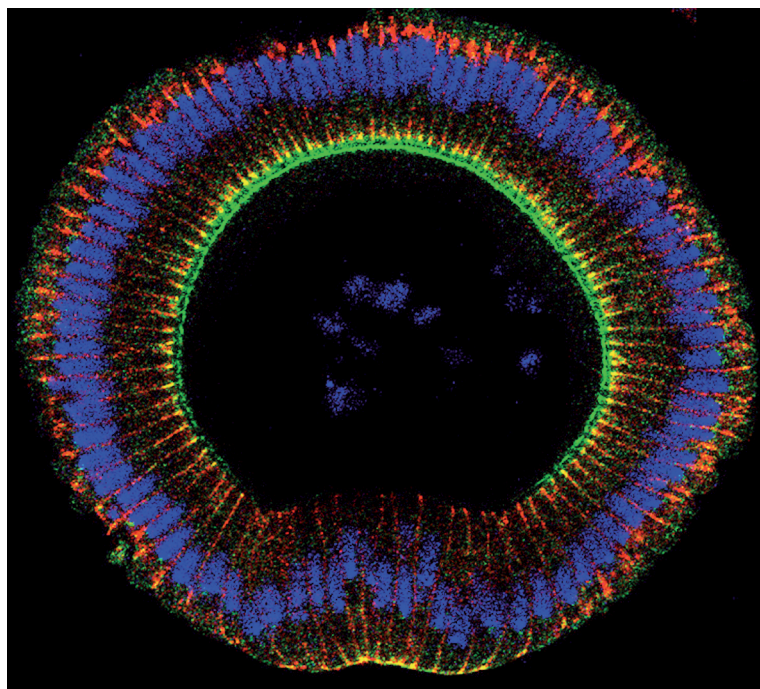
Ulrich Schwarz

Der menschliche Körper besteht aus mehr als zehn Billionen Zellen, die eine stabile Einheit bilden, aber auch dynamische Vorgänge wie das Schließen einer Wunde erlauben. Was hält die Zellen in unserem Körper so zusammen, dass er strukturell stabil und dynamisch zugleich sein kann? Tatsächlich sind dies viele schwache biomolekulare Bindungen zwischen den Zellen und ihrer Umgebung, die sich ständig öffnen und schließen.

Im menschlichen Körper finden sich rund $3 \cdot 10^{13}$ Zellen, die typischerweise etwa $10 \mu\text{m}$ groß sind. Im Laufe des Lebens werden etwa 10^{16} Zellen gebildet. Nach der Embryonalentwicklung stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Zellteilung und -verlust ein, sodass sich die Erneuerung nahezu gleichmäßig über die Lebenszeit von etwa 80 Jahren verteilt. Demnach erzeugt unser Körper neue Zellen und verliert alte mit einer Frequenz von etwa $10^{16}/10^9 \text{ s} = 10^7 \text{ Hz}$. Der menschliche Körper ist also in einem Fließgleichgewicht mit sehr starker Austauschdynamik, obwohl wir ihn subjektiv als relativ statisches System wahrnehmen.

Auch bezüglich der räumlichen Anordnung der Zellen ist unser Körper hochdynamisch. Viele Zellen bewegen sich auch nach Abschluss der Entwicklungsphase, ohne dass wir dies wahrnehmen. So bewegen sich Immunzellen ständig durch den Körper, um Pathogene zu finden und zu bekämpfen, und Lernprozesse im Gehirn sind mit der Bewegung von Neuronen verbunden. Am augenfälligsten ist die Zellbewegung, wenn sich eine Wunde innerhalb von Tagen wieder schließt. Diese Dynamik der Zellen kann auch eine Bedrohung werden, wenn sich nämlich metastasierende Krebszellen im Körper ausbreiten.

Die Dynamik in unserem Körper erinnert an ein thermodynamisches System, das makroskopisch in Ruhe zu sein scheint, während auf der mikroskopischen Ebene ständige Bewegung herrscht. Tatsächlich ist die Situation im biologischen System aber fundamental anders, da die zelluläre Dynamik durch Nicht-Gleichgewichtsprozesse getrieben wird, die Energie verbrauchen. Im Gegensatz zu einem Festkörperkristall oder einem passiven Polymernetzwerk handelt es sich bei unserem Körper also um „aktive Materie“ [1]. Die zur Stabilität notwendigen Bedingungen können dabei ganz andere sein als bei physikalischen Systemen im Gleichgewicht. Die Frage nach der Sta-



Jörg Grosshans / U Göttingen

bilität unseres Körpers stellt sich auch deshalb, weil er ständig unter mechanischer Belastung steht, die sich eigentlich negativ auf seine Kohäsion auswirken sollte.

Aufgrund der großen Dynamik von Zellen im Körper verwundert es nicht, dass relativ starke physikalische Kräfte wirken. So beruhen zum Beispiel zentrale Umordnungsprozesse in der Embryonalentwicklung auf elastischen Instabilitäten ganzer Zellschichten. Beim Modellorganismus der Fruchtfliege führt die räumliche Verteilung der Kräfte während der „Gas-trulation“ dazu, dass sich die Zellschicht nach innen einstülpt und sich verschiedene übereinander liegende Keimblätter bilden (Abb. oben). Offensichtlich können

Querschnitt eines Fruchtfliegen-Embryos, der begonnen hat, sich einzustülpen. Blau markiert sind die Zellkerne, rot die Zell-Zell-Grenzen.

KOMPAKT

- Durch das schnelle Öffnen und Schließen von biomolekularen Bindungen können Zellen stabil in einer Umgebung verankert und gleichzeitig beweglich sein.
- Wirkt eine Kraft auf eine typische biomolekulare Bindung, verringert sich ihre Lebensdauer (Slip-Bond). Bei Ensembles von Bindungen kann die dynamische Umverteilung der Kraft Reißkaskaden verursachen.
- Um ihre Verbindungen stabiler zu machen und trotzdem dynamisch zu bleiben, nutzen Zellen Bindungen, die sich unter Kraft verstärken (Catch-Bonds), sowie das Wachstum von Adhäsionskontakten unter Kraft.

Prof. Dr. Ulrich Schwarz, Institut für Theoretische Physik, Philosophenweg 19 und BioQuant, Im Neuenheimer Feld 267, 69120 Heidelberg

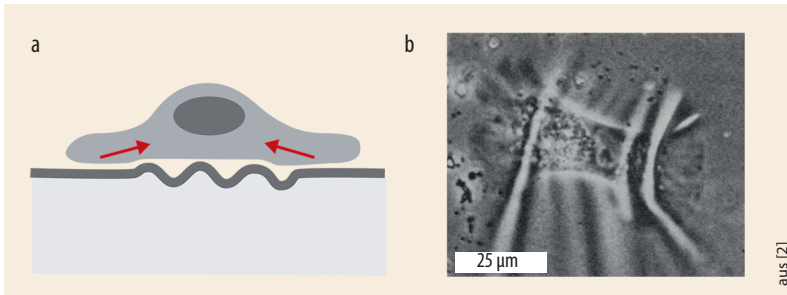


Abb. 1 Schon eine Einzelzelle ist stark genug, um auf einer dünnen Unterlage Falten zu erzeugen (a). Unter dem Lichtmikroskop zeigen sich diese Falten sehr deutlich (b).

die dafür nötigen mechanischen Kräfte nur wirken, weil die Zellen sehr gut aneinander haften und große Kräfte erzeugen. Tatsächlich treten erstaunlich große Kräfte schon bei Einzelzellen auf, z. B. wenn diese einen dünnen Silikonfilm so stark verformen, dass er Falten wirft (**Abb. 1**) [2]. Große Kräfte treten bei Gewebezellen nicht nur auf, wenn sie sich bewegen oder teilen. Inzwischen ist klar, dass adhärenzte Zellen starke Kräfte auf ihre Umgebung ausüben, auch wenn damit keine direkte Funktion verbunden ist. Auf diese Weise können sie kontinuierlich mechanische Informationen über ihre Umgebung sammeln und gegebenenfalls schneller auf Veränderungen reagieren [3].

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden verschiedene Methoden entwickelt, um zelluläre Kräfte mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung zu messen – beispielsweise die Zellkraftmikroskopie (**Abb. 2**). Haftet eine einzelne Zelle an einer dicken elastischen Unterlage, verformt sie diese, ohne Falten zu werfen. Die Elastizitätstheorie erlaubt es, daraus die Traktionskräfte an der Grenzfläche zu berechnen. Die Hauptkräfte treten dabei an den Kontakten am Ende der Faserbündel auf. Einzelne Kontakte zwischen Zellen und ihrer Umgebung tragen eine typische Kraft von 5 nN [4]. Bei einer Kontaktgröße von 1 µm entspricht das einer elastischen Spannung von $5 \text{ nN}/(1 \text{ µm})^2 = 5 \text{ kPa}$ direkt am Kontakt. Diese Kraft entsteht hauptsächlich durch kontraktile Faserbündel in der Zelle, die eine Linienspannung der Größenordnung nN erzeugen [5].

Wie gelingt es Zellen, den strukturellen Zusammenhalt von Gewebe zu garantieren, wenn gleichzeitig eine hohe Dynamik und starke Kräfte herrschen? Eine mögliche Lösung wäre eine Arbeitsteilung zwischen

den Zellen: Während eine Zelle für den Zusammenhalt sorgt, könnte eine andere sich bewegen oder teilen. Experimentelle Beobachtungen zeigen aber, dass dies nicht der Fall ist. Die Zellen spalten sich nämlich nicht unbedingt in zwei Populationen auf, sondern sie sind Alleskönner, die strukturelle Identität und Dynamik intrinsisch miteinander verbinden. Um dies besser zu verstehen, muss man auf dem biomolekularen Niveau untersuchen, wie Zellen mit ihrer Umgebung verbunden sind. Dabei liefern die Physik der weichen Materie und die Statistische Physik den Hintergrund, um die Zelladhäsion aus Sicht der Physik zu analysieren [6].

Spezifische Bindungen

Menschliche Zellen sind rund 10 µm groß, können aber in ihrer Form und Abmessung stark variieren. Sie bestehen aus Biomolekülen wie Proteinen, Lipiden, Nucleinsäuren und Zuckern, die nur in wässriger Lösung ihre vorgesehene Funktion erreichen. Vor allem Polymernetzwerke und Lipidmembranen bestimmen die strukturellen und mechanischen Eigenschaften und führen zu einem kleinen effektiven Elastizitätsmodul von nur 10 kPa. Objekte dieser Art werden meist in der Physik der weichen Materie untersucht, z. B. als Mikrokapseln oder Liposomen. Solche Teilchen haften meist nicht-spezifisch aneinander oder an ihre Umgebung, vor allem aufgrund der allgegenwärtigen van der Waals-Wechselwirkung. Im Gegensatz dazu versuchen Zellen, diese nicht-spezifische Adhäsion zu vermeiden. Dafür kommen mehrere Strategien zum Einsatz wie die thermische Fluktuation der Zellmembran, der Einbau von Zuckermolekülen in die Zellmembran, um eine sterische Abstoßung zu erzeugen, und eine elektrostatische Aufladung der Zellmembran mit vorwiegend negativen Ladungen, die zu einer abstoßenden Coulomb-Wechselwirkung führen. Tatsächlich verhindern ähnliche Strategien auch in den Materialwissenschaften die Aggregation in Dispersionen.

Zellen können ihre Anhaftung an die Umgebung dadurch kontrollieren, dass sie in einen inerten Hintergrund spezielle Haftpunkte einführen, die nur dann

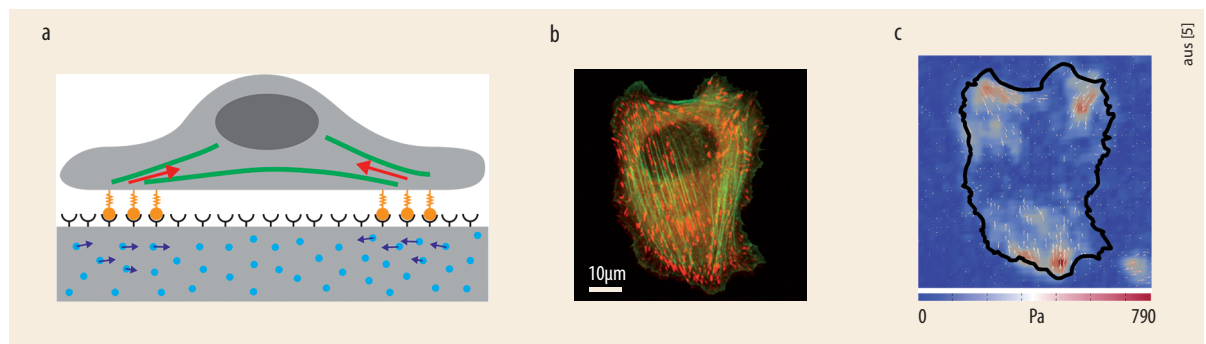


Abb. 2 Eine Zelle stellt die Verbindung zu Adhäsionsliganden auf einer flachen Unterlage durch Adhäsionsrezeptoren in der Zellmembran her, die in mikrometergroßen Kontakten lokalisiert sind (a). Markierungen (blau) im Untergrund er-

lauben es, seine Verformung zu verfolgen. Die Kräfte werden vor allem durch kontraktile Faserbündel (grün eingefärbt in b) erzeugt und durch lokalisierte Zellkontakte (rot) auf das Substrat geleitet. Aus der Verformung der Unterlage be-

rechnen sich die Traktionskräfte der Zelle (c). Die Hauptkräfte treten an Kontakten am Ende der Faserbündel auf. Da die elastischen Spannungen nicht für Einzelkontakte, sondern flächig rekonstruiert wurden, betragen sie weniger als 1 kPa.

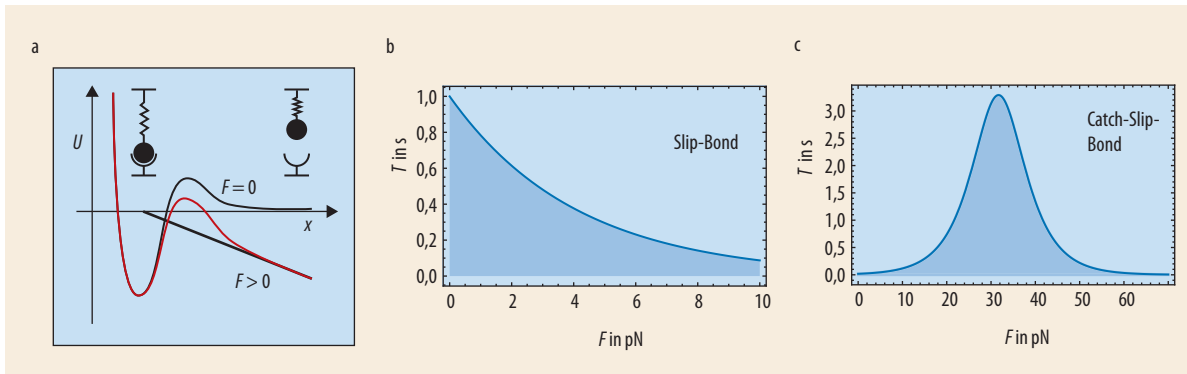


Abb. 3 Eine biomolekulare Bindung lässt sich als Zwei-Zustands-System betrachten (a). Die Reaktionskoordinate x ist die Position des Liganden in der Bindungstasche des Rezeptors. Die geschlossene Bindung entspricht einem metastabilen Minimum in der Energielandschaft. Die offene Bindung ist durch eine Übergangsbarriere davon getrennt. Eine Kraft kippt die

Energielandschaft. Für diesen Fall sagt die Kramers-Theorie voraus, dass die Lebenszeit T der Bindung exponentiell mit der Kraft F abnimmt (b). Bestimmte biomolekulare Bindungen, z. B. die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin-Fibronectin-Bindung, verhalten sich wie Catch-Slip-Bonds, d. h. die Lebenszeit nimmt bei wachsender Kraft zunächst zu (c).

zum Zug kommen, wenn dies für eine bestimmte Funktion gewünscht ist. Hier verwenden Zellen das Schlüssel-Schloss-Prinzip, das auch für die biochemische und genetische Informationsverarbeitung in der Zelle zur Anwendung kommt. Für die Zelladhäsion baut die Zelle bestimmte Proteine, sog. Adhäsionsrezeptoren, in die Zellmembran ein, die nur bestimmte Proteine in der Umgebung, die komplementären Adhäsionsliganden, binden können. Ein instruktives Beispiel ist eine Fibroblasten-Zelle, die im Bindegewebe für die Wundheilung zuständig ist. Ein Hauptbestandteil des Bindegewebes ist das Protein Fibronectin. Um daran zu binden, baut die Zelle etwa 10^5 Adhäsionsrezeptoren eines bestimmten Typs ($\alpha_5\beta_1$ -Integrin) in ihre Membran ein (in **Abb. 2a** sind sechs Bindungen zu sehen). Bei der Anhaftung an eine Oberfläche ziehen sich diese in wenigen Kontaktbereichen zusammen (zwei in **Abb. 2a**; die Zelle hat hunderte davon). Jede einzelne Bindung darin hat eine typische Lebenszeit von einer Sekunde. Das ständige Öffnen und Schließen dieser Bindungen erlaubt es der Zelle, einerseits stabil in ihrer Umgebung verankert zu sein und andererseits in der Wundheilung schnell in eine Bewegung in die offene Wundfläche überzugehen. Dank der spezifischen Adhäsionsbindungen ist die Zelle also gleichzeitig strukturell stabil und dynamisch. Beide Funktionen sind intrinsisch miteinander verbunden. Tatsächlich lässt sich dieser Zusammenhang mit mathematischen Modellen gut verstehen. Dafür benötigen wir aber zunächst eine angemessene Modellvorstellung einer einzelnen biomolekularen Bindung.

Bindung in zwei Zuständen

Physiker und Biologen untersuchen die Details der biomolekularen Bindung meist für spezielle Beispiele wie die Integrin-Fibronectin-Bindung in atomistischen Details. Auf der experimentellen Seite kommen vor allem Strukturuntersuchungen wie Röntgenstreuung, Kernspinresonanz oder Elektronenmikroskopie zum Einsatz, auf der theoretischen Seite vor allem molekular-

lardynamische Rechnungen. Atomistisch besteht jede Bindung aus einem ganzen Ensemble von schwachen Wechselwirkungen, z. B. Coulomb-Wechselwirkungen zwischen Ladungen oder Wasserstoffbrückenbindungen. Da wir uns hier aber mehr für die zelluläre Biophysik interessieren, reicht für viele Zwecke eine vergrößerte Sichtweise, die eine biomolekulare Bindung als Zwei-Zustands-System betrachtet. Eine Bindung kann demnach entweder geschlossen oder offen sein. Eine Energiebarriere mit einer typischen Höhe von einigen $k_B T = 25$ meV (k_B ist die Boltzmann-Konstante und T die typische Umgebungstemperatur von 300 K) trennt diese beiden Zustände, was zu einer typischen Lebensdauer von Sekunden führt.

Theoretisch lässt sich diese Situation am besten mit Methoden der stochastischen Dynamik beschreiben. Die geschlossene Bindung wird als metastabiles Minimum in einer Energielandschaft modelliert (**Abb. 3a**). Über eine Übergangsbarriere ist das lokale Minimum mit dem offenen Zustand verbunden. Die sog. Kramers-Theorie erlaubt es zu berechnen, mit welcher Wahrscheinlichkeit und wann das System in den offenen Zustand wechselt [7]. Demnach verlängert sich die mittlere Lebensdauer T exponentiell durch eine linear anwachsende Barrierenhöhe. In der Zelladhäsion sind vor allem Bindungen unter mechanischer Belastung von Interesse, daher fehlt in dieser Rechnung noch die Rolle der Kraft. George Bell hat dies für statische Kräfte erstmals 1978 diskutiert [8]. Die Kraft senkt über den neuen Term $-F \cdot x$ in der Energie (F Kraft, x Reaktionskoordinate der Dissoziation) die Übergangsbarriere linear und damit die Lebenszeit T als Funktion der Kraft exponentiell ab (in der Näherung einer scharfen Übergangsbarriere, **Abb. 3b**). Die Dissoziationskonstante lautet also:

$$k_{\text{off}}(F) = 1/T = k_0 \exp(Fx_0/k_B T) \tag{1}$$

Die experimentell zu bestimmenden Bond-Parameter sind die kräftefreie Dissoziationskonstante k_0 und die für die Übergangsbarriere charakteristische Länge x_0 . Typische Werte sind $k_0 = 1$ Hz und $x_0 = 1$ nm. Für die Kraftskala folgt also $F_0 = k_B T/x_0 = 4,1$ pN.

In den letzten Jahrzehnten gelang es mit Hilfe der dynamischen Kraftspektroskopie, das Kramers-Konzept für biomolekulare Bindungen in beeindruckender Weise für zahlreiche biomolekulare Bindungen zu bestätigen. Heutzutage nutzen viele Arbeitsgruppen das atomare Kraftmikroskop (AFM) oder optische Pinzetten, um das Kraft-induzierte Brechen einzelner biomolekularer Bindungen zu untersuchen. Da es für das Experiment am einfachsten ist, die Kraft auf eine Bindung linear in der Zeit zu erhöhen, musste zur korrekten Auswertung der Messungen das Kramers-Problem für dieses spezielle Protokoll gelöst werden. 1997 zeigten Evan Evans und Ken Ritchie in einer einfachen Näherung, dass die charakteristische Kraft, bei der die Bindung bricht, logarithmisch mit der Rate anwächst, mit der die Kraft steigt [9]. Heutige Aufbauten erlauben es, sowohl linear anwachsende als auch konstante Kräfte zu realisieren und dabei übereinstimmende Ergebnisse für die physikalischen Kenngrößen k_0 und x_0 von biomolekularen Bindungen zu erhalten. Damit ist Gleichung (1) vollständig bestimmt.

Da eine typische biomolekulare Bindung unter größerer Kraft ihre Lebensdauer verringert, spricht man bei Gültigkeit der Kramers-Bell-Evans-Formel (Gleichung 1) von einem „Slip-Bond“. Schon 1988 haben Micah Dembo und Koautoren spekuliert, dass es auch biomolekulare Bindungen geben könnte, deren Lebenszeit sich unter Kraft erhöht („Catch-Bond“) [10]. Eine gern verwendete Metapher ist die einer Katze, die sich umso stärker festkrallt, je mehr man sie von einem Teppich wegziehen möchte. Experimentell wurde der erste Catch-Bond 2003 für einen Adhäsionsrezeptor gefunden. Generell scheint sich dieses Verhalten vor allem für biomolekulare Bindungen entwickelt zu haben, die unter physiologischen Bedingungen besonders starken Kräften ausgesetzt sind. Das gilt zunächst für Immunzellen, die in der Nähe von Wunden oder Infektionen die Blutbahn verlassen müssen und dabei starken hydrodynamischen Kräften ausgesetzt sind. Zudem gibt es Bakterien, die sich in fremden Umgebungen festsetzen wollen, oder Zellen des Bindege-

webes, die in der Wundheilung aktiv werden sollen. Insbesondere handelt es sich bei der $\alpha_5\beta_1$ -Integrin-Fibronectin-Bindung um einen Catch-Bond, wie AFM-Messungen 2009 zeigten.

Natürlich muss jede Bindung unter sehr großen Kräften brechen. Die Lebensdauer kann sich aber über einen bestimmten Kraftbereich erhöhen und dann wieder abfallen („Catch-Slip-Bond“), wenn die Energielandschaft mehr als einen metastabilen Zustand und/oder mehr als einen Dissoziationsweg umfasst. Ein einfacher Fall ist das „Two-Pathway Model“, das zu folgender Gleichung für die Dissoziationsrate führt:

$$k_{\text{off}}(F) = 1/T = k_s \exp(Fx_s/k_B T) + k_c \exp(-Fx_c/k_B T) \quad (2)$$

Für die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin-Fibronectin-Bindung ergab ein Fit an die mit AFM gemessenen Daten $x_s = x_c = 0,76$ nm, $k_s = 4,2 \cdot 10^{-4}$ Hz und $k_c = 55$ Hz [11]. Die mittlere Lebensdauer T hat dann bei $F = 31,7$ pN ein Maximum von 3,3 s (Abb. 3c).

Mit Hilfe der dynamischen Kraftspektroskopie und der Molekulardynamik wurden mittlerweile mehrere Catch-Slip-Bond-Systeme im Detail untersucht. Bei der Komplexität biologischer Systeme verwundert es nicht, dass kompliziertere Energielandschaften sogar noch kompliziertere Dissoziationsszenarien hervorrufen und beispielsweise zu Gedächtniseffekten in biomolekularen Bindungen führen können. Interessanterweise basiert auch die Funktion von Muskeln auf einem Catch-Slip-Bond, da sich das relevante Motorprotein (Myosin II) unter mechanischer Belastung langsamer von seiner Umgebung löst und so den Muskel bei der Arbeit stabilisiert.

Im Ensemble gebunden

Nachdem geklärt ist, wie sich eine einzelne biomolekulare Bindung modellieren lässt, wenden wir uns jetzt deren Funktion in einem Ensemble zu. In der

PARALLEL CLUSTER MODEL

Wir betrachten eine konstante Zahl von N_i Bindungen, die zwei parallele Platten zusammenhalten, die mit der Kraft F mechanisch belastet sind. Zum Zeitpunkt t ist eine Anzahl i ($0 \leq i \leq N_i$) von Bindungen geschlossen. Besteht der Unterschied zwischen verschiedenen Bindungen nur darin, dass sie offen oder geschlossen sind, reicht es aus, die dynamische Variable $i(t)$ zu verfolgen. Die Wahrscheinlichkeit $p_i(t)$, dass zur Zeit t genau i Bindungen geschlossen sind, entwickelt sich entsprechend einer Ein-Schritt-Mastergleichung:

$$\frac{dp_i}{dt} = r(i+1)p_{i+1} + g(i-1)p_{i-1} - [r(i) + g(i)]p_i \quad (i)$$

Der Zustand i kann sich demnach einstellen, wenn von $i+1$ Bindungen eine reißt (erster Term) oder wenn zu $i-1$ Bindungen durch Rückbindung eine weitere hinzukommt (zweiter Term). Die Terme mit negativem Vorzeichen sind die entsprechenden Verlustterme. Die Übergangsraten r und g verbinden Ensemble-Kombinatorik und Einzelmolekularaten.

Im Kramers-Bell-Evans-Modell für den Slip-Bond (Gleichung 1) definieren wir eine dimensionslose Zeit $\tau = k_0 t$, eine dimensionslose Kraft $f = F x_0 / k_B T$ und eine dimensionslose und kraftunabhängige Rückbinderate $\gamma = k_{\text{on}} / k_0$. Ist die Kraft gleichmäßig über alle geschlossenen Bindungen verteilt, lauten

die Raten für die Mastergleichung

$$r(i) = i e^{f/i}, \quad g(i) = \gamma(N_i - i) \quad (ii)$$

Die Kraft f erzeugt also eine Nichtlinearität, die zu starker Kooperativität führt. Dadurch kommt es unter Kraft zu Reißkaskaden. Trotz der Nichtlinearität in den Raten lassen sich viele wichtige Eigenschaften der ansonsten linearen Mastergleichung analytisch berechnen, insbesondere die mittlere Zeit T bis Erreichen des Zustands $i=0$, die mit dem Versagen des Adhäsionsclusters identifiziert wird (mathematisch handelt es sich um die mittlere Zeit zum Erreichen einer Schwelle, also eine „Mean First Passage Time“).

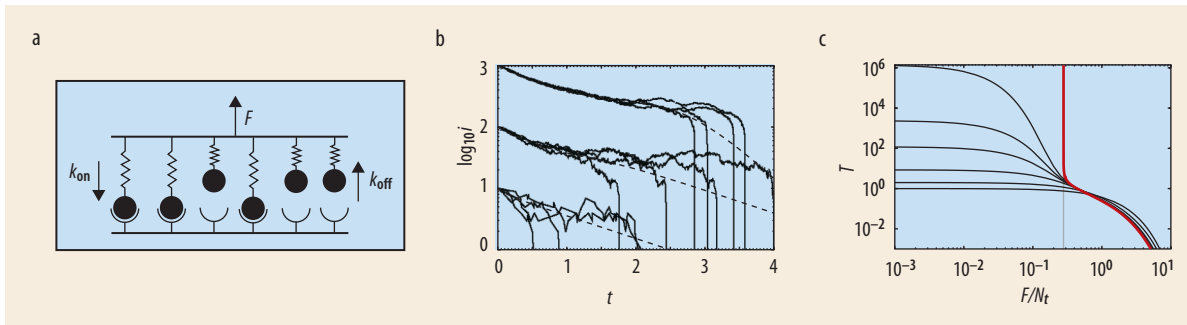


Abb. 4 Das Parallel Cluster Model beschreibt ein Ensemble von Bindungen, die zwei parallele Platten zusammenhalten (a). Von N_t Bindungen (hier $N_t = 6$) sind zu einem bestimmten Zeitpunkt i geschlossen (hier $i = 3$) und $N_t - i$ geöffnet. Die Zahl der geschlossenen Bindungen durchläuft einen Zufallsprozess mit Werten zwischen N_t und 0 (b). Je kleiner der Cluster und je stärker die Kraft, desto schneller stellt sich der Wert $i = 0$ ein, bei dem der Cluster instabil wird. Die Trajektorien sind stochas-

tische Simulationen für Cluster der Größe $N_t = 10, 100$ und 1000 . Die Kraft ist größer als die kritische Schwelle, sodass im Mittel kein stabiler Zustand mehr existiert. Die mittlere Lebenszeit eines Ensembles nimmt oberhalb einer kritischen Schwelle in der Kraft (vertikaler grauer Strich, c) stark ab. Die schwarzen Kurven sind von unten nach oben für $N_t = 1, 2, 5, 10, 15$ und 25 . Die rote Kurve ist die Molekularfeldnäherung.

Zelladhäsion wirken biomolekulare Bindungen immer in Ensembles verschiedener Größe. Um eine schnelle Reaktion zu ermöglichen, sind Adhäsionsrezeptoren wie die Integrine in der Zellmembran oft in kleinen Gruppen von zwei bis vier Bindungen vorgeclustert und können bei geeigneten Signalen schnell zu großen Adhäsionsclustern mit über tausend Bindungen heranwachsen. Tatsächlich findet man experimentell mit der Zellkraftmikroskopie, dass dies genau dann passiert, wenn große Kräfte auf die Kontakte wirken [4].

Das „Parallel Cluster Model“ (PCM, Infokasten) ist das einfachste Modell, um diese Situation mathematisch zu analysieren. Ein Ensemble mit N_t biomolekularen Bindungen hält hierbei zwei parallele Platten zusammen (Abb. 4a). Wir betrachten zunächst die stochastische Variante, die es erlaubt, die Zahl der geschlossenen Bindungen i als Funktion der Zeit t zu verfolgen [12]. Jede Bindung kann wie ein Slip-Bond unter Kraft reißen (Gleichung 1 für k_{off}) und mit einer konstanten Rate k_{on} zurückbinden. Der Wert von i schwankt zwischen N_t für den komplett geschlossenen Cluster und 0 für den offenen Cluster. Ohne Kraft führt i einen Random Walk aus, der bei $i = 0$ endet; der Cluster kann dann keine Verbindung mehr garantieren. Unter Kraft verschiebt sich die Bewegung zu kleineren Werten von i , weil mehr Bindungen reißen als ohne Kraft. Hierbei kommt es zu stark nichtlinearen Effekten und starker Kooperativität. Im PCM wird angenommen, dass die Kraft gleichmäßig über alle geschlossenen Bindungen verteilt ist. Reißt eine Bindung, wirkt eine größere Kraft auf die verbleibenden. Aufgrund des exponentiellen Zusammenhangs von Gleichung (1) führt das zu einer überproportional schnelleren Dissoziation, während die kraftunabhängige Assoziation den gleichen Wert behält. Daher kommt es zu Reißkaskaden, bei denen immer mehr Bindungen sehr schnell aufbrechen können (Abb. 4b).

An den Ergebnissen für die mittlere Cluster-Lebenszeit T für einen Cluster von Slip-Bonds sieht man, dass bei kleinen Kräften F (normiert auf die Gesamtzahl der Bindungen N_t) die Lebenszeit exponentiell mit der Clustergröße N_t ansteigt (Abb. 4c). Eine kleine Vergrö-

ßerung des Ensembles wirkt sich also dramatisch auf seine Stabilität aus, da die Fluktuationen, bei denen alle Bindungen gleichzeitig geöffnet sind, immer unwahrscheinlicher werden. Dies erklärt, warum Zellen ihre Kontakte unter Kraft vergrößern. Auch eine höhere Rückbinderate verlängert die Lebenszeit, und zwar umso stärker, je größer der Cluster ist. Demgegenüber steht die destabilisierende Wirkung der Kraft F . Es gibt eine Kraftschwelle, jenseits der alle Cluster unabhängig von ihrer Größe nur sehr kurzlebig sind (Abb. 4c). Denn bei gleicher Kraft pro Bindung reißen die ersten Bonds gleich schnell und der Rest in einer Reißkaskade so schnell, dass die Clustergröße keine Rolle mehr spielt.

Für große Werte von N_t lässt sich die Existenz dieser Schwelle exakt zeigen, und zwar als Bifurkation der Molekularfeldnäherung der stochastischen Gleichung [8, 12]. Die entsprechende Differentialgleichung für kleine Kräfte hat einen stabilen und einen instabilen Zweig (Abb. 5a). Man kann dies auch als Bistabilität zwischen einem weitgehend geschlossenen und einem komplett offenen Cluster interpretieren. Bei einer kritischen Kraft treffen sich die zwei Zweige in einer Sattel-Knoten-Bifurkation, oberhalb derer der Cluster vollkommen instabil wird. Der Wert der kritischen Kraft lässt sich exakt berechnen:

$$F_c = N_t F_0 \text{plog}(k_{on}/(k_0 \cdot e)) \quad (3)$$

Dabei ist der Produktlogarithmus $\text{plog}(a)$ die Lösung der Gleichung $x \cdot \exp(x) = a$. Für kleine Rückbinderaten ($k_{on} < k_0$) ist diese Beziehung linear, d. h. $F_c \sim k_{on}$. Eine Rückbinderate ist essenziell, um überhaupt eine Stabilitätsschwelle unter Kraft zu erzeugen. Für große Rückbinderaten wird der Zusammenhang logarithmisch, d. h. der destabilisierende Effekt der Kraft überwiegt. Oberhalb der Stabilitätsschwelle (vertikale graue Linie in Abb. 4c) lässt sich aus der Molekularfeldnäherung eine Näherung für die mittlere Lebenszeit berechnen (rote Linie). Diese divergiert an der Stabilitätsschwelle, weil die Molekularfeldnäherung effektiv ein sehr großes System annimmt, während die stochastischen Lösungen auch unterhalb der Schwelle noch

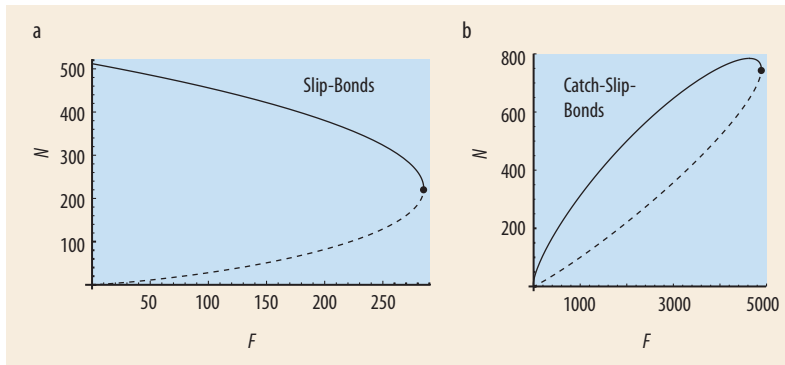


Abb. 5 Das Bifurkationsdiagramm für das PCM zeigt für Slip-Bonds eine Sattel-Knoten-Bifurkation (a). $N = \langle i \rangle$ ist die mittlere Zahl der geschlossenen Bindungen. Für Catch-Slip-Bonds steigt ihre Zahl als Funktion der Kraft zunächst an (b), aber eine Stabilitätsschwelle existiert trotzdem.

endliche Lebenszeiten ergeben, weil sie die endliche Größe des Systems berücksichtigen.

Eine ähnliche Bifurkationsanalyse ist auch für ein Ensemble von Catch-Slip-Bonds möglich, die gemäß Gleichung 2 dissoziieren [11]. Das Bifurkationsdiagramm zeigt für Integrin-Fibronectin-Bindungen, dass die Zahl der geschlossenen Bindungen als Funktion der Kraft zunächst nicht ab-, sondern zunimmt (Abb. 5b). Bei sehr großen Kräften kommt es zu einer Sattel-Knoten-Bifurkation, an der das System schlagartig seine Stabilität verliert. Auch der Cluster unter linear steigender Kraft lässt sich mit einer Molekularfeldnäherung analysieren [13]. In diesem Fall wird der Cluster immer instabil werden, weil die Kraft jede Grenze übersteigt. Die mittlere Zeit dafür hängt charakteristisch von der Rate ab, mit der die Kraft anwächst.

Zusammenfassung und Ausblick

Eine Vielzahl von biomolekularen Bindungen, die sich kontinuierlich öffnen und schließen, erzeugt den strukturellen Zusammenhang von Zellen. Dies erlaubt es dem biologischen System, sehr schnell auf Änderungen in der Umgebung zu reagieren. Trotz dieser Dynamik muss der Körper immer auch seinen strukturellen Zusammenhang gewährleisten. Dafür hat die Evolution verschiedene Strategien entwickelt. Ein spektakuläres Beispiel auf dem Niveau der Einzelbindung ist der Catch-Bond, der unter Kraft sogar stärker wird. Auf dem Niveau der kollektiven Bindung führt vor allem die schnelle Rückbindung dazu, dass das Kollektiv als Ganzes funktional bleibt, auch wenn einzelne Bindungen sich öffnen. Ein weiteres wichtiges Element zur Stabilisierung der Zelladhäsion ist die aktive Kontrolle der Größe der Adhäsionscluster, die unter mechanischer Belastung dynamisch wachsen [3, 4].

Mechanische Kräfte führen zu starker Kooperativität zwischen den Bindungsprozessen, die sich beispielsweise mit dem Parallel Cluster Model analysieren lassen. Für viele biologische Anwendungen müssen die entsprechenden Modelle allerdings deutlich detaillierter sein. Ein Beispiel dafür ist die Adhäsion von weißen Blutkörperchen oder Malaria-infizierten roten

Blutkörperchen im Blutfluss. Diese Zellen sind mit speziellen Adhäsionsrezeptoren bedeckt (meist Catch-Bonds), die zu einer effektiven Bindung an die Wand der Blutgefäße führen. Da gleichzeitig der hydrodynamische Fluss an den Zellen zieht, kommt es zur rollenden Adhäsion – einer Rollbewegung entlang den Gefäßwänden, bei der am vorderen Ende laufend neue Bindungen gebildet und am hinteren Ende gebrochen werden. Um die Wahrscheinlichkeit für das Bilden einer neuen Bindung sowie die Verteilung der Kraft über die verschiedenen geschlossenen Bindungen zu berechnen, sind meist aufwändige Computersimulationen notwendig [14]. Die Reduktion der Bindung auf ein Zwei-Zustands-System erlaubt es aber, auch in komplexen Systemen physikalische und biochemische Aspekte voneinander zu trennen.

Wie die Entdeckung der Catch-Bonds gezeigt hat, ist davon auszugehen, dass biologische Systeme weitere, bisher unentdeckte Mechanismen entwickelt haben, um ihre Haftungssysteme mit bestimmten biologischen Funktionalitäten auszustatten. Solche Lösungen könnten auch für die Materialwissenschaften interessant sein, in denen Haftungs- und Reibungsprobleme ebenfalls allgegenwärtig sind. Da Bindungsprozesse unter Kraft abseits des thermischen Gleichgewichts sind, ist es spannend zu fragen, inwieweit sie sich so entwickelt haben, dass sie auf dem Niveau der einzelnen Moleküle oder der Ensembles einer gewissen Optimalität gehorchen.

Literatur

- [1] M. C. Marchetti et al., Rev. Mod. Phys. **85**, 1143 (2013)
- [2] A. K. Harris, P. Wild und D. Stopak, Science **208**, 177 (1980)
- [3] B. Geiger, J. P. Spatz und A. D. Bershadsky, Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. **10**, 21 (2009)
- [4] N. Q. Balaban et al., Nat. Cell. Biol. **3**, 466 (2001)
- [5] J. R. D. Soine et al., PLoS Comput Biol. **11**, e1004076 (2015)
- [6] U. S. Schwarz und S. A. Safran, Rev. Mod. Phys. **85**, 1327 (2013)
- [7] P. Hänggi et al., Rev. Mod. Phys. **62**, 251 (1990)
- [8] G. Bell, Science **200**, 618 (1978)
- [9] E. Evans und K. Ritchie, Biophys. J. **72**, 1541 (1997)
- [10] M. Dembo et al., Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. **234**, 55 (1988)
- [11] E. A. Novikova und C. Storm, Biophys. J. **105**, 1336 (2013)
- [12] T. Erdmann und U. S. Schwarz, Phys. Rev. Lett. **92**, 108102 (2004)
- [13] U. Seifert, Phys. Rev. Lett. **84**, 2750 (2000)
- [14] C. B. Korn und U. S. Schwarz, Phys. Rev. E. **77**, 041904 (2008)

DER AUTOR

Ulrich Schwarz (FV Biologische Physik) studierte Physik in Freiburg, Baltimore und München und promovierte am MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung in Potsdam. Nach einem Postdoc-Aufenthalt am Weizmann-Institut (Israel) leitete er eine Emmy-Noether-Nachwuchsgruppe, erst am MPI in Potsdam, dann in Heidelberg. 2008 wurde er auf eine Professur für Theoretische Biophysik nach Karlsruhe berufen. Seit 2009 ist er Professor für Theoretische Physik an der Uni Heidelberg. Von 2011 bis 2013 war er Sprecher des FV Biologische Physik. Bei den Fachzeitschriften New Journal of Physics und Physical Review E ist er als Editor für die Bereiche Weiche Materie und Biophysik tätig.

