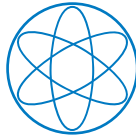


PHYSIK DEPARTMENT



Dynamik semiflexibler Polymere im Scherfluss

**Dissertation
von
Markus Bernhard Harasim**



TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Biophysik E27

Dynamik semiflexibler Polymere im Scherfluss

Markus Bernhard Harasim

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Physik der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. M. Zacharias

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. A. Bausch
2. Univ.-Prof. Dr. Th. Hugel

Die Dissertation wurde am 29.04.2013 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Physik am 18.06.2013 angenommen.

Zusammenfassung

In unserem alltäglichen Leben begegnen wir den besonderen Eigenschaften von Polymerlösungen, Polymerschmelzen und Polymernetzwerken in unzähligen Anwendungen und Produkten. Die allgegenwärtigen Polymermaterialien zeigen vor allem dann interessante Phänomene, wenn makroskopische Kräfte auf sie wirken. Zum Beispiel treten bei nicht-newtonschen Polymerlösungen im Scherfluss Effekte wie Scherverdünnung, Scherverdickung oder der Weissenberg Effekt auf, welche mit den reinen Lösungsmitteln nicht zu beobachten sind. Der Ursprung dieser Effekte ist das mikroskopische Verhalten der Polymere und dessen Rückkopplung auf die Flusseigenschaften der Flüssigkeit. Trotz umfangreicher theoretischer und experimenteller Arbeiten auf diesem Gebiet ist dies ein Gegenstand aktueller Forschung und die Zusammenhänge sind noch nicht genau geklärt.

Während der Doktorarbeit wurde ein experimentelles Modellsystem entwickelt, realisiert und analysiert, welches die Untersuchung des mikroskopischen Verhaltens von Polymeren unter der Krafteinwirkung eines einfachen Scherflusses ermöglicht. Zu diesem Zweck wurde das Verhalten der Polymerkonformation im Fluss durch einen Mikrokanal mit dem Verhalten im Gleichgewicht verglichen. Aus den beobachteten Konformationen wurde ein analytisches Modell der Orientierungsdynamik der Polymere im Scherfluss entwickelt, das die Messwerte ohne freien Parameter beschreibt. Bei höheren Polymer-Konzentrationen des Modellsystems wurden bisher unbeobachtete mikroskopische Bewegungsabläufe der Polymere identifiziert und die veränderte Polymer-Dynamik untersucht.

Im ersten Teil dieser Arbeit wird eine einfache Polymerlösung im Gleichgewicht charakterisiert, bestehend aus semiflexiblen Aktin-Filamenten und einer Newton'schen Trägerflüssigkeit. Aufgrund ihrer Persistenzlänge von $16\ \mu\text{m}$ verhalten sich kurze ($< 5\ \mu\text{m}$) Aktin-Filamente wie stabartige Polymere, während bei längeren Filamenten ($> 16\ \mu\text{m}$) die flexiblen Eigenschaften das Verhalten dominieren. Die Konformation eines frei diffundierenden fluoreszenz-markierten Aktin-Filaments wird in einem Fluoreszenz-Mikroskop beobachtet und mit einem selbst-entwickelten quantitativen Auswertungsalgorithmus wird aus

den erfassten Konformationskoordinaten der End-zu-End-Vektor bestimmt. Die mittlere quadratische Rotationsverschiebung des End-zu-End-Vektors der Aktin-Filamente und von simulierten Polymeren zeigt dabei Verläufe, welche nicht von den gängigen Theorien für stabartige und flexible Polymere beschrieben werden. Anhand der gemessenen und simulierten Daten wird ein Modell identifiziert, welches für den gesamten Steifigkeitsbereich die Messkurven reproduziert. Mit diesem Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette kann die Rotationsrelaxationszeit der Aktin-Filamente und der Einfluss der Biegemoden auf die mittlere quadratische Rotationsverschiebung ohne freien Parameter quantitativ beschrieben werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wird das mikroskopische Verhalten von einzelnen Aktin-Filamenten in verdünnter Lösung im Scherfluss untersucht. Mit einer Kombination eines motorisierten Mikroskoptisches und eines Mikrofluidik-Kanals kann ein fluoreszenz-markiertes Aktin-Filament im Fluss durch den Kanal verfolgt und über lange Zeit beobachtet werden. Das Aktin-Filament vollführt im Scherfluss des Mikrofluidik-Kanals eine klare sogenannte Tumbling-Bewegung, bei der sich die Orientierungsrichtung des Filaments zyklisch vertauscht. Aus der charakteristischen Abfolge der Konformationszyklen eines einzelnen Filaments wird eine Stadion-ähnliche Bahn der Filamentsegmente motiviert, die sich aus der Kraftbalance der Reibungs- und entgegenwirkenden Biegekräften ergibt. Mit den experimentell bestätigten Werten für den Biegeradius und der Bahngeschwindigkeit, lässt sich die Dynamik des Orientierungswinkels des Aktin-Filaments auf die Dynamik eines teleskopartigen Brown'schen Stabes zurückführen. Damit kann die Zeit zwischen zwei Tumbling-Ereignissen, die sog. Tumblingzeit, mit einer analytischen Formel ohne freien Parameter berechnet werden, welche mit den Messergebnissen und Daten aus Simulationen gut übereinstimmt.

Im letzten Teil dieser Arbeit wird die Bewegung höher konzentrierter sogenannter verschlaufte Aktin-Filamente im Scherfluss beobachtet. Die Gesamtkonzentration von Aktin liegt dabei oberhalb der Überlapp-Konzentration, wo eine unabhängige und ungestörte Bewegung der Aktin-Filamente nicht mehr möglich ist. Die Bewegung eines einzelnen fluoreszenz-markierten Aktin-Filament (sog. Reporter-Filamente) wird in einer solchen Lösung beobachtet, wobei es von mehreren tausend nicht-fluoreszenz-markierten Aktin-Filamenten (sogenannte Bulk-Filamente) in nächster Nähe umgeben ist. Abweichend vom verdünnten Fall können hier erstmals neue Konformationsabfolgen beobachtet werden, welche als »anormales Tumbling« und »abgebrochenes Tumbling« charakterisiert werden. Bei beiden Phänomenen verlaufen die Bewegungen der Konformationen zumindest teilweise gegenläufig zu den Flussgeschwindigkei-

ten, die in der polymerfreien Trägerflüssigkeit vorherrschen würden. Die Tumblingzeit der Filamente ist aufgrund der Filament-Filament-Wechselwirkungen im Vergleich zum verdünnten Fall wesentlich geringer. Die Filamente sind hierbei wesentlich häufiger in Flussrichtung ausgerichtet. Zudem wird der Einfluss der Verteilung der Filamentlängen der Bulk-Filamente auf die Orientierungsdynamik der Reporter-Filamente untersucht. Dabei wird die Längenverteilung der Bulk-Filamente zu kürzeren Filamentlängen verschoben – bei einem konstanten Volumen-Anteil an Aktin-Molekülen. Im Ergebnis sind längere Tumblingzeiten bei längeren Bulk-Filamenten zu beobachten.

Die hier vorgestellten Ergebnisse legen die Grundlage für ein besseres Verständnis der Eigenschaften von Polymerflüssigkeiten. Das Wissen über das mikroskopische Verhalten der Polymere unter dem Einfluss makroskopischer Kräfte ermöglicht es, das Verhalten von Polymerlösungen und Polymerschmelzen auf die Eigenschaften ihrer elementaren Bestandteile zurückzuführen.

Inhaltsverzeichnis

- Zusammenfassung v
- 1 Einleitung 1
- 2 Grundlagen und Methoden 3
 - 2.1 Aktin Polymere 3
 - 2.1.1 Herstellung von Aktin-Filamenten 3
 - 2.1.2 Mechanische Eigenschaften von Aktin-Filamenten 4
 - 2.2 Mikrofluidik 5
 - 2.2.1 Herstellung und Aufbau 5
 - 2.2.2 Optische Eigenschaften - Angleichung des Brechungsindex 7
 - 2.2.3 Permeationseigenschaften 8
 - 2.2.4 Flusseigenschaften 9
 - 2.2.5 Geschwindigkeitsprofile 10
 - 2.2.6 Scherrate 10
 - 2.3 Auswertung der Mikroskopiebilder 12
 - 2.3.1 Erfassung der Filamentkonformation 12
 - 2.3.2 Kanalerkennung 14
- 3 Diffusionseigenschaften und Dynamik von Polymeren im Gleichgewicht 17
 - 3.1 Rotationsdiffusion 18
 - 3.1.1 Rotationsdiffusion stabartiger Polymere 20
 - 3.1.2 Rotationsdiffusion flexibler Polymere 20
 - 3.1.3 Rotationsdiffusion im Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette 21
 - 3.2 Messung der Rotationsdiffusion von Aktin-Filamenten 24
 - 3.2.1 Experimenteller Aufbau und Durchführung 24
 - 3.2.2 Auswertung der Messung 29
 - 3.2.3 Verhalten der mittleren quadratischen Rotationsverschiebung des End-zu-End-Vektors 30

3.3	Messung der Rotationsdiffusion von simulierten Polymeren	32
3.3.1	Simulationsdesign	32
3.3.2	Verhalten der mittleren quadratischen Rotationsverschiebung des End-zu-End-Vektors	35
4	Einzelne Aktin Polymere im Scherfluss	39
4.1	Fließverhalten von Aktin-Filamenten	41
4.2	Konformationseigenschaften von Aktin-Filamenten im Scherfluss	43
4.3	Dynamik von Aktin-Filamenten im Scherfluss	47
4.3.1	Stadion-Modell	49
4.3.2	Modell eines teleskopartigen Stabes	53
4.3.3	Vergleich mit den Messungen	56
4.3.4	Verhalten bei flexibleren Filamenten	61
4.4	Orientierungs- und Ausdehnungsverhalten	67
5	Verschlaufte Aktin-Filamente im Scherfluss	71
5.1	Versuchsdurchführung	72
5.2	Konformationseigenschaften von verschlaufenen Aktin-Filamenten im Scherfluss	73
5.3	Dynamik verschlaufter Aktin-Filamente im Scherfluss	75
5.4	Einfluss der Polydispersität	76
6	Ausblick	81
Anhang	85
1	Herleitungen im Modell der Gauss'schen semiflexiblen Kette . . .	85
1.1	Korrelationsfunktionen	86
1.2	End-zu-End-Vektor	87
2	Herleitung des Stadionbahn-Radius	90
3	Herleitung der Verteilungsfunktion des Orientierungswinkels . .	93
Literaturverzeichnis	97
Danksagung	103
Publikationsliste	105

Kapitel 1

Einleitung

In unserem alltäglichen Leben trifft man nahezu überall auf Polymere und Polymernetzwerke: Angefangen von bekannten Kunstfasern wie Nylon, Gummi und Plastik bis hin zu diversen Sorten von Biomaterialien wie Haaren (Keratin), Haut (Kollagen), Papier (Zellulose), Teig (Stärke) und DNA. Die mechanischen Eigenschaften von Polymermaterialien unterscheiden sich teilweise drastisch von denen polymerfreier Materialien. Ein Beispiel hierfür ist das Verhalten von Polymerschmelzen oder Polymerlösungen unter Krafteinwirkung: Je nachdem wie die Kraft auf das Polymermaterial einwirkt, kann dieses viskose, elastische oder viskoelastische Eigenschaften aufweisen. Phänomene wie z. B. Scherverdünnung oder Scherverdickung werden schon bei einfachen Polymerlösungen beobachtet und finden vielfach Anwendung in Produkten der Industrie wie z. B. Shampoo und Zahnpasta. Auch das Beladen eines Öltankers kann durch die Zugabe kleiner Mengen an Polymeren deutlich beschleunigt werden, da Polymere die Reibung des Öls effektiv verringern können.

Der Ursprung dieser Eigenschaften liegt hierbei in der Reaktion der dreidimensionalen Anordnung der Polymersegmente, der Polymerkonformation, auf die auftretenden Flussfelder. Das Verständnis der auftretenden Veränderungen ist daher essentiell, um die makroskopischen Auswirkungen erklären und voraussagen zu können. Das Verhalten von Polymerkonformationen im Gleichgewicht ist im Allgemeinen gut theoretisch und experimentell bekannt, da man auf die Erfahrungen und Modelle aus mehreren Jahrzehnten Forschung auf dem Gebiet der Gleichgewichtsthermodynamik zurückgreifen kann.

Das Wissen um die Eigenschaften von Polymeren unter Krafteinwirkung ist jedoch noch lückenhaft und ein Feld aktueller Forschung. Ziel ist es, die Verbindung zwischen makroskopischen Effekten und Kräften und den mikroskopischen Eigenschaften der Polymerkonformation zu verstehen und durch Modelle zu beschreiben. Bei der Beschreibung dieser komplexen Systeme stellt jedoch die hohe Anzahl der systemeigenen Freiheitsgrade hohe Anforderungen

an die Theorie und Rechenleistung, welches die theoretische Beschreibung und Simulation limitiert. Daher versucht man die Konformationseigenschaften der Polymere und deren Dynamik experimentell zu untersuchen und Rückschlüsse auf die entscheidenden Größen zu ziehen. Die Beobachtung der Polymere und das gleichzeitige Anlegen von Kräften oder Flussfeldern stellen aufgrund der kleinen Dimensionen der Polymere besondere Herausforderungen an das Experiment. In früheren Arbeiten [1, 2, 3] wurden nur sehr kleine Kräfte oder Flussfelder und ihre Auswirkungen auf einfach beobachtbare Polymere untersucht, wodurch die Aussagekraft und örtliche Auflösung begrenzt ist.

Die einfach zu realisierende Mikrofluidik-Technik eröffnet hierbei die Möglichkeit Strömungen in selbst konstruierten und hergestellten Mikrokanälen zu erzeugen, und den Durchfluss der eingespülten Flüssigkeiten unter dem Mikroskop zu beobachten. Aufgrund der typischerweise hohen Flussgeschwindigkeiten sind einzelne Bestandteile der Flüssigkeiten dabei nur für sehr kurze Zeit im Bildausschnitt zu erkennen. Daher ist die Beobachtung einzelner Polymere einer Polymerlösung beim Durchfluss in Mikrofluidik-Kanälen limitiert (vgl. [4]). Durch eine mit dem fließenden Polymer frei beweglichen Mikroskop-Optik kann dieses Problem eliminiert werden, und das Polymer kann unter Kraft- bzw. Flussfeldeinwirkung für relativ lange Zeiten verfolgt werden. Zu diesem Zweck wird in dieser Arbeit ein solches Beobachtungssystem entwickelt und eine Computer-gestützte Auswertung der Konformationseigenschaften in einfachen Flusseigenschaften realisiert. Damit kann die Reaktion der Konformationseigenschaften von Polymeren auf die Flussfelder direkt visuell bestimmt werden.

Kapitel 2

Grundlagen und Methoden

2.1 Aktin Polymere

Das Zytoskelett-Protein Aktin besitzt in seiner monomeren oder auch globulären Form, sog. G-Aktin, eine molekulare Masse von ~ 45 kDa. Mehrere monomere Aktin-Proteine können zu einer rechtsdrehenden zwei-strängigen Helix polymerisieren und so bis zu $100 \mu\text{m}$ lange und ca. 7 nm [5] dünne Filamente ausbilden. Damit stellen Aktin-Filamente, sog. F-Aktin, eine der größten atomaren Strukturen aus Biomolekülen [6] dar.

In dieser Arbeit wird F-Aktin als Modell-Polymer zur Untersuchung der Polymerbewegung verwendet. Seine speziellen polaren, chemischen und enzymatischen Eigenschaften werden weitestgehend vernachlässigt. Die gut etablierte Herstellung fluoreszenz-markierter Aktin-Filamente ermöglicht eine robuste und reproduzierbare Beobachtung der Aktin-Filamente in Fluoreszenz-Mikroskopen (vgl. [7]). Die vergleichsweise hohe Steifigkeit erlaubt zudem eine gute Positionsauflösung der Filamentkonformation, da durch die hohen Biegeenergien Überlagerungen des Fluoreszenz-Lichts nicht-benachbarter Filamentsegmente typischerweise nicht auftreten.

2.1.1 Herstellung von Aktin-Filamenten

Globuläres Aktin (G-Aktin) wird aus Kaninchen-Muskeln mittels eines modifizierten Protokolls nach [8] gewonnen, wobei ein zusätzlicher Gel-Filtrations-Schritt (Sephacryl S-300 HR) und ein zusätzlicher Polymerisations-Depolymerisations-Schritt eingeführt wird. Das so aufgereinigte Protein wird in lyophilisierter Form auf $-21 \text{ }^\circ\text{C}$ [8] gelagert oder direkt polymerisiert. Lyophilisiertes G-Aktin wird in Wasser gelöst und anschließend auf $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gegen G-Puffer (2 mM Tris, 0.2 mM ATP, 0.2 mM CaCl_2 , 0.2 mM DTT and 0.005% NaN_3 , pH 8)

dialysiert. Die G-Aktin-Lösung wird auf 4°C aufbewahrt und innerhalb von zehn Tagen benutzt.

Die Polymerisierung wird durch die Zugabe von 10 Volumenprozent einer Puffer-Lösung (20 mM Tris, 5 mM ATP, 20 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, 1 M KCl, 2 mM DTT, pH 7.5) initiiert.

2.1.2 Mechanische Eigenschaften von Aktin-Filamenten

Polymere, deren mechanische Eigenschaften weder als flexibel noch als steif beschrieben werden können, sog. *semiflexible Polymere*, können sehr gut mit einem kontinuierlichen Modell beschrieben werden - dem »worm-like-chain«-Modell (WLC-Modell) (vgl. [9, 6]). Darunter fallen unter anderem DNA, Mikrotubuli und Aktin-Filamente. Das WLC-Modell beschreibt das Polymer der Länge L_c als eine kontinuierliche Kette mit der Raumkurve $r(s)$ und dem Konturparameter $s \in [0; L_c]$, die eine endliche elastische Biegeenergie besitzt. Die Biegeenergie U_{bend} ergibt sich mit dem Tangentenvektor $\mathbf{t}(s) = \frac{\partial r(s)}{\partial s}$ und der Biegesteifigkeit κ zu

$$U_{\text{bend}} = \frac{1}{2} \kappa \int_0^{L_c} \left(\frac{\partial \mathbf{t}}{\partial s} \right)^2 ds. \quad (2.1)$$

Als wichtigen Parameter bei der Beschreibung der mechanischen Eigenschaften benutzt man *die Persistenzlänge*, welche sich über die thermische Energie $k_B T$ definiert [10]

$$L_p = \frac{\kappa}{k_B T}. \quad (2.2)$$

Mit Hilfe der Persistenzlänge L_p lassen sich verschiedene Bedingungen für das Verhalten eines semiflexiblen Polymers im Gleichgewicht ableiten. So fällt die gemittelte Korrelationsfunktion des Tangentenvektors mit zunehmender Länge s' ab.

$$\langle \mathbf{t}(s') \cdot \mathbf{t}(s + s') \rangle = \exp\left(-\frac{s}{L_p}\right) \quad (2.3)$$

Mit dieser Relation lässt sich ein Ausdruck für den End-zu-End-Abstand $R_{\text{ee}} = r(s = 0) - r(s = L_c)$ eines Polymers im thermischen Gleichgewicht herleiten [11]:

$$\langle R_{\text{ee}}^2 \rangle = 2L_p^2 \left[\exp\left(-\frac{L_c}{L_p}\right) - 1 + \frac{L_c}{L_p} \right] \quad (2.4)$$

Eine weitere wichtige Größe für Polymere ist der mittlere quadratische Gyrationradius R_{gyr}^2

$$R_{\text{gyr}}^2 = \frac{1}{2L_c^2} \int_0^{L_c} \int_0^{L_c} \langle (\mathbf{r}(s) - \mathbf{r}(s'))^2 \rangle ds' ds, \quad (2.5)$$

welcher sich nach [12] zu folgendem Ausdruck berechnet.

$$R_{\text{gyr}}^2 = \frac{L_c L_p}{3} - L_p^2 + \frac{2L_p^3}{L_c} - \frac{2L_p^4}{L_c^2} \cdot \left(1 - \exp\left(-\frac{L_c}{L_p}\right) \right) \quad (2.6)$$

2.2 Mikrofluidik

2.2.1 Herstellung und Aufbau

Die Herstellung der Mikrofluidik-Kanäle erfolgt mit gewissen Anpassungen nach der etablierten Methode der Soft-Lithographie gemäß [13]. Die Mikrofluidik-Kanäle werden mit AutoCAD gezeichnet und auf eine Chrommaske aufgebracht (bvm.maskshop GbR). Das Design eines Beispielkanals ist in Abbildung 2.1 dargestellt. Im Unterschied zu [13] wird eine Chrommaske mit einer Auflösung von 100.000 – 200.000 dpi verwendet, um die Genauigkeit der zu belichtenden Struktur wesentlich zu erhöhen.

Zur Herstellung des Relief-Profiles der Kanäle wird ein Silizium-Waferstück (Si-Mat.) in einem Rotationsbeschichter¹ mit SU-8-2075 Photolack (MicroChem Corp.) so beschichtet, dass eine Schichtdicke von 60 – 70 µm erreicht wird. Das Waferstück wird auf einer Heizplatte mit einer Temperatur von 65 °C gelegt, wodurch das Lösungsmittel des Photolacks verdunsten kann. Im Gegensatz zu den Vorgaben des Photolack-Herstellers wird auf zu große Temperatur-Gradienten verzichtet und sämtliche Backschritte werden auf 65 °C mit einer verlängerten Backzeit durchgeführt, um Verspannungen zwischen Photolack und Wafer zu vermeiden. Vor der Belichtung des Photolacks wird das Waferstück auf Raumtemperatur abgekühlt und anschließend ein Tropfen Glycerin aufgebracht. Die Chrommaske wird dann so auf das Waferstück gepresst, dass das Glycerin einen möglichst gleichmäßigen dünnen Film erzeugt. Nach [14] werden durch die Verwendung einer Glycerin-Schicht Brechungseffekte an den Grenzflächen der Chrommaske bzw. des Photolacks stark reduziert, womit senkrechte Kanalwände ermöglicht werden. Bei dem anvisierten Verhältnis von Kanalhöhe zu

¹engl. spin-coater

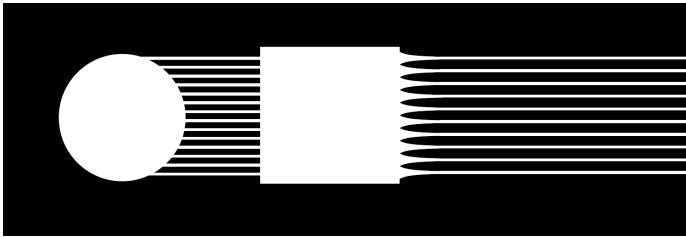


Abbildung 2.1 : Ausschnitt des Einlassteils eines Kanaldesigns. Die Kreisfläche links stellt die Markierung für die Einlassverbindung dar. Die kleinen Kanäle zwischen Einlass und dem rechteckigen Teil fungieren als Filter, durch den etwaige Verunreinigungen abgehalten werden können. Diese kurzen kleinen Kanäle besitzen dieselbe Breite (hier 20 μm) wie die eigentlichen Hauptkanäle. Der Einlass der Hauptkanäle ist hyperbolisch geformt, um eine konstante und vor allem kontrollierte Elongationsrate zu erreichen. Die Hauptkanäle führen hierbei 2 cm lang weiter bis zum Auslass. Die redundante und parallele Anordnung von 10 Kanälen garantiert die Verwendbarkeit mindestens eines Kanals, da durch Fehlbelichtungen oder Staubeinschlüsse einige Kanäle Defekte aufweisen können.

Kanalbreite von 3:1 sind senkrechte Kanalwände ohne diese Modifikation sonst nicht realisierbar.

Nach der Belichtung unter einer Quecksilber-Dampf-Lampe wird die photoinduzierte Vernetzung des Photolacks auf einer Heizplatte bei 65 °C ($> 1/2$ h) vollendet. Anschließend werden die unvernetzten Bereiche des Photolacks auf dem Waferstück mit einem Entwickler aufgelöst. Das so entstandene Relief kann in einem Relief-Abgussverfahren mit einem PDMS (Polydimethylsiloxan)-Vernetzungs-Kit (Sylgard®184 Silicone Elastomer Kit) ausgegossen werden. Nach der Härtung in einem 70°C-Ofen wird der PDMS-Abguss vom Wafer entfernt, die Ein- und Ausflüsse ausgestanzt und das PDMS-Stück nach einer Behandlung mit Sauerstoff-Plasma gemäß [13] mit einem Deckglas kovalent verbunden. Der schematische Aufbau eines Kanals ist beispielhaft in Abbildung 2.2(a) dargestellt. An den Anschluss-Punkten werden handelsübliche Spritzen mit Schläuchen angeschlossen und in eine Spritzenpumpe eingespannt, um eine Lösung mit einer festgelegten Flussrate durch das Kanalsystem zu pumpen.

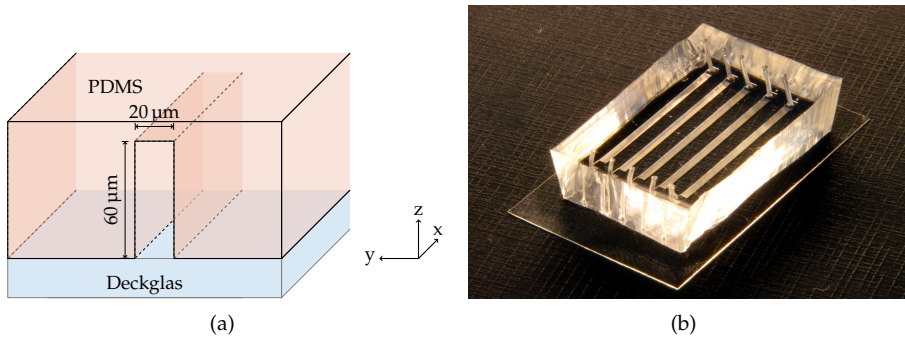


Abbildung 2.2 : (a) Schematischer Aufbau eines Mikrofluidik-Kanals mit Flussrichtung in x -Richtung. (b) Foto eines Mikrofluidik-Chips mit fünf parallel verlaufenden Kanalstrukturen. Jede Kanalstruktur besitzt einen Ein- und Auslasspunkt der aus dem PDMS (Polydimethylsiloxan) ausgestanzt wurde. Die Kanalstrukturen sind wiederum aus zehn parallel verlaufenden Einzelkanälen aufgebaut, was die Ausfalltoleranz aufgrund von Produktionsfehlern erhöht.

2.2.2 Optische Eigenschaften - Angleichung des Brechungsindex

Die Beobachtung eines Fluoreszenz-markierten Moleküls im Kanal durch die Optik eines Fluoreszenz-Mikroskops ist nur begrenzt möglich, da ein Teil des vom Molekül emittierten Lichts an den Kanalwänden gebrochen wird. Durch die Brechung an der Kanalwand wird effektiv der Winkel verkleinert, mit dem das Mikroskop-Objektiv das emittierte Licht einfangen kann. Je nach Position des Moleküls kann dieser Effekt zu einem wesentlich verminderten Kontrast und/oder auch zu einer Unschärfe der Filamentkontur im aufgezeichneten Bild führen. Die ursächliche Brechung ist dabei nach dem Snellius'schem Brechungsgesetz vom Unterschied der Brechungsindices der Flüssigkeit und der Kanalwand abhängig.

Der Brechungsindex des Wandmaterials (PDMS) konnte mit einem Refraktometer zu $1.408 - 1.410$ bestimmt werden. Üblicherweise werden für Aktin-Lösungen wasser-ähnliche Lösungen mit einem Brechungsindex von ca. 1.33 verwendet, wodurch sich ein hoher Unterschied in der optischen Dichte zwischen Flüssigkeit und Wand ergibt. Um diesen Unterschied zu minimieren, wurde der Brechungsindex der verwendeten Lösung durch Zugabe von Sucrose oder Glucose verändert. Der Unterschied wird durch den Vergleich zweier

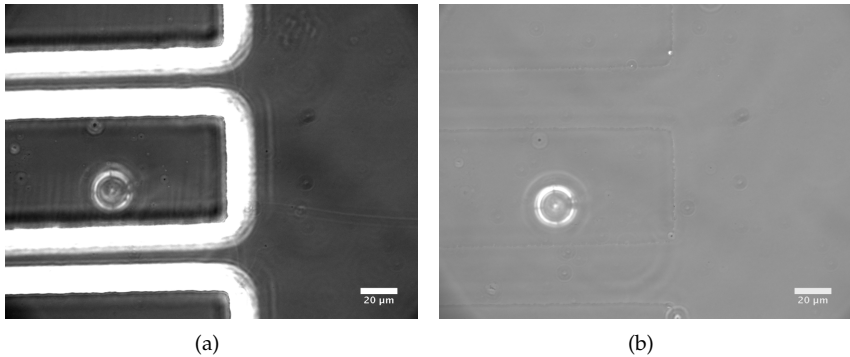


Abbildung 2.3 : Phasenkontrast-Bild eines Mikrofluidik-Kanals mit Wasser (a) und mit einer an den Brechungsindex von PDMS angepassten Wasser-Zucker-Lösung (b). Man erkennt in (a) an den Kanalwänden bei einer Wasserlösung deutliche durch die unterschiedliche optische Dichte hervorgerufene Effekte. Bei der angepassten Lösung in (b) hingegen ist es schwer die Kanalwand zu erkennen.

Phasen-Kontrast-Bilder von einer Kanalstelle mit (siehe Abbildung 2.3(b)) und ohne (siehe Abb. 2.3(a)) Zugabe von Sucrose deutlich.

Durch eine solche Anpassung des Brechungsindex der Lösung können die Brechungseffekte an der Kanalwand minimiert und eine gleichbleibende Qualität der Abbildung über die gesamte Höhe des Kanals erreicht werden. Daher wird bei allen Versuchen in Mikrofluidik-Kanälen die Lösung mit soviel Sucrose vermischt, dass in einer Kontrollmessung der Brechungsindex der Lösung zu einem Wert von 1.41 bestätigt werden kann.

2.2.3 Permeationseigenschaften

Molekularer Sauerstoff ist einer der Hauptursachen von Bleicheffekten [15] von Fluoreszenz-Molekülen, wodurch sich bei hohen Konzentrationen von molekularem Sauerstoff starke Limitierungen bei der Beobachtungszeit von Fluoreszenz-Molekülen ergeben. Experimentell werden häufig auch sog. »photo-damage«-Effekte beobachtet, bei denen angeregte Fluoreszenz-Moleküle mit Sauerstoff-Molekülen reagieren und die entstehenden freien Sauerstoff-Radikale Schäden an der Molekülstruktur des markierten Moleküls verursachen [16]. Daher wird bei Experimenten mit photo-sensitiven Stoffen versucht diese Einflüsse durch Luftabschluss zu minimieren.

Das Wand- und Deckenmaterial eines Mikrofluidik-Kanals PDMS ist stark gas-permeabel [17, 13], was zu einem kontinuierlichen Austausch an molekularem Sauerstoff während eines Experiments führt. Als Folge ist die Photo-Stabilität der fluoreszenz-markierten Aktin-Filamente in einem Mikrofluidik-Kanal deutlich eingeschränkt. Experimentell kann man bei fluoreszenz-markierten Aktin-Filamenten beobachten, dass diese bei Standard-Puffer-Bedingungen (2 mM Tris, 0.5 mM ATP, 2 mM MgCl_2 , 0.2 mM CaCl_2 , 0.1 M KCl, 0.2 mM DTT, pH 7.5) bei Fluoreszenz-Beleuchtung in einem Mikrofluidik-Kanal sehr schnell (< 10 s) zu brechen beginnen.

Um diesem Problem zu begegnen, kann der Austausch mit Sauerstoff minimiert werden [18] oder ein Radikalfänger verwendet werden. Als Radikalfänger² werden hierbei Stoffe bezeichnet, die Sauerstoff, freie Sauerstoffradikale oder ihre Reaktionsprodukte chemisch zu unreaktiveren Produkten abbauen können. Als praktikabelste Lösung wurde der Einsatz von Ascorbin-Säure als Radikalfänger gewählt, da durch die einfach dosierbare Zugabe zur Pufferlösung die Effekte effektiv minimiert werden konnten.

2.2.4 Flusseigenschaften

Die Flusseigenschaften der Flüssigkeit in einem Mikrofluidik-Kanal können mit der Reynoldszahl Re charakterisiert werden, welche das Verhältnis zwischen Trägheits- und Reibungskräften angibt. Die Reynoldszahl Re des Systems ist durch die Viskosität der Flüssigkeit η , ihrer Dichte ρ , ihrer Geschwindigkeit v und der charakteristischen Länge w des Systems festgelegt.

$$Re = \frac{w\rho v}{\eta} \quad (2.7)$$

Für die benutzten Flüssigkeiten ($\eta = 8 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$, $\rho \approx 10^3 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$) bei den typischen Flussgeschwindigkeiten ($v \approx 10^{-4} \frac{\text{m}}{\text{s}}$) und den benutzten Kanälen mit einer Kanalbreite von $w = 32 \mu\text{m}$ berechnet sich die Reynoldszahl zu $Re = 4 \cdot 10^{-4} \ll 1$. Nach [19] ergeben sich im Mikrofluidik-Kanal laminare Strömungen und die lokale Flussgeschwindigkeit in einem Kanal der Breite w und Höhe h kann analytisch berechnet werden.

²engl. scavenger

2.2.5 Geschwindigkeitsprofile

Die nach [19] berechneten Geschwindigkeitsprofile und ihre Ableitung nach Höhen- bzw. Breitenposition sind in Abbildung 2.4 für einen Kanal mit dem Seitenverhältnis 1:3 (Breite:Höhe) dargestellt. In der x, y -Ebene auf halber Kanalhöhe ergeben sich nahezu parabolische Geschwindigkeitsprofile, wobei die Flussgeschwindigkeiten $v_{\text{fluid}}(z, y)$ nur sehr gering von der aktuellen Höhe z abhängen (siehe Abb. 2.4(c)).

Über einen großen Bereich (ca. 60% der Gesamthöhe) um die halbe Kanalhöhe ist die Änderung der Flussgeschwindigkeit mit der Höhe vernachlässigbar (vgl. Abb. 2.4(c)). Nur in der Nähe des Kanalbodens bzw. der Kanaldecke wird der Gradient der Geschwindigkeit in z -Richtung stärker als der Gradient in y -Richtung und das Geschwindigkeitsprofil in der x, y -Ebene weicht stark von einem parabolischen Profil ab. Die Wahl des Seitenverhältnisses des Kanals bestimmt hierbei die Größe des Bereichs, in welchem eine nahezu gleichbleibende Geschwindigkeitsverteilung vorherrscht. Je höher der Kanal desto größer ist dieser Bereich. Da ein zu großes Seitenverhältnis jedoch Probleme bei der Herstellung und Haltbarkeit des Kanalreliefs auf dem Wafer verursacht, wurde als Kompromisslösung der Mikrokanal mit einem Verhältnis von 1:3 (Breite:Höhe) konstruiert.

2.2.6 Scherrate

Nach [19] kann die Flussgeschwindigkeit $v_{\text{fluid},x}(y)$ der Flüssigkeit in x -Richtung auf halber Kanalhöhe in guter Näherung als parabolisch beschrieben werden. Die Verteilung der Flussgeschwindigkeit in einem Kanal der Breite w kann daher durch

$$v_{\text{fluid},x}(y) = v_0 \left(1 - \frac{y^2}{(w/2)^2} \right) \quad (2.8)$$

beschrieben werden, wobei v_0 die maximale Geschwindigkeit in der Ebene bezeichnet. Um die Position $y = w/4$ kann somit lokal ($y = w/4 =: y$) die Geschwindigkeit $v_{\text{fluid},x}(y)$ mit der Scherrate $\dot{\gamma}(y) = \frac{2v_0}{(w/2)^2} |y|$ und der y -Position ausgedrückt werden:

$$v_{\text{fluid},x} \propto -\dot{\gamma}y - \dot{\gamma} \frac{2}{w} y^2 = -\dot{\gamma}y \left(1 + \frac{2y}{w} \right) \quad (2.9)$$

Für eine Kanalbreite von $w \approx 30 \mu\text{m}$ kann man an dieser Position das Geschwindigkeitsprofil über einen Bereich von ca. $2 \mu\text{m}$ gut mit einer linearen Funktion $\propto \dot{\gamma}y$ beschreiben, wobei sich nur geringe Abweichungen (ca. 13%)

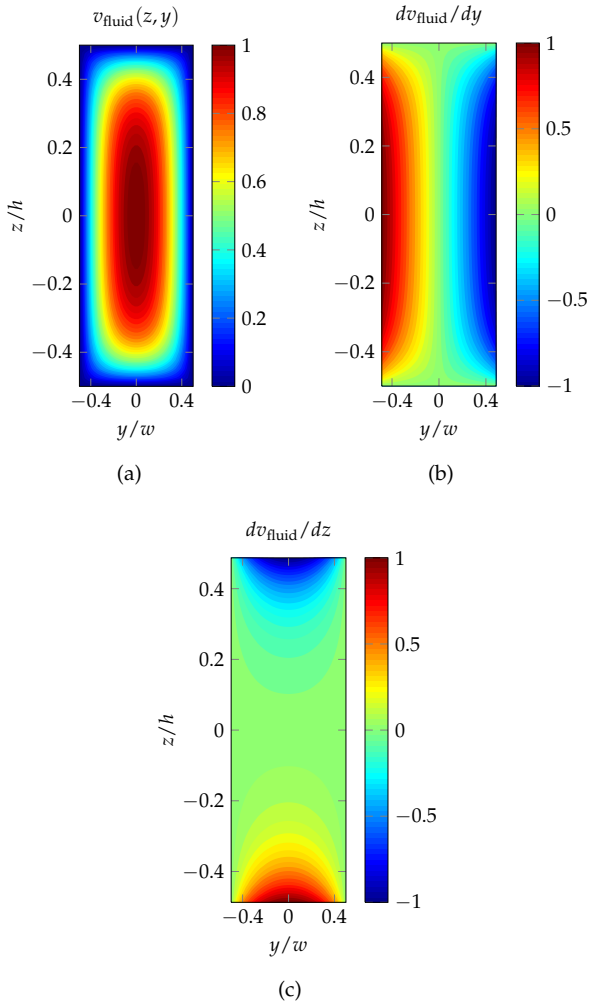


Abbildung 2.4 : Die Flussgeschwindigkeiten (a) und die Ableitungen nach Seiten- (b) und Höhenposition (c) für einen Mikrofluidik-Kanal mit dem Seitenverhältnis 3:1 (H:B) wurden in Abhängigkeit ihrer y - z -Position visualisiert. In der Farbkodierung wurden alle Werte auf den jeweiligen Maximalwert normiert. Um die mittlere Kanalhöhe zeigt sich dabei ein Gebiet, dessen Flusseigenschaften nur sehr schwach von der aktuellen z -Position abhängig sind.

vom parabolischen Profil ergeben. Dadurch kann um diese Position in guter Näherung ein einfacher Scherfluss angenommen werden.

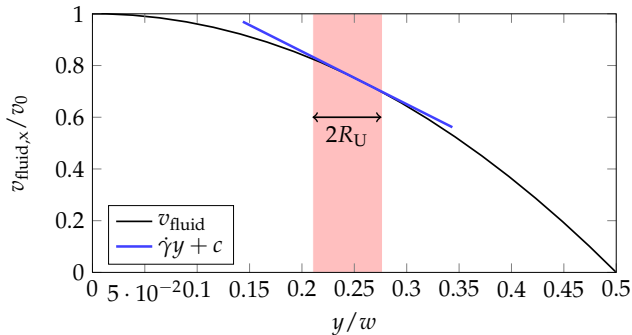


Abbildung 2.5 : Das parabolische Geschwindigkeitsprofil der Flüssigkeit kann an der Position $y = w/4$ über einen großen Bereich (hier mit zwei R_U bezeichnet vgl. Abschnitt 4) gut durch eine Gerade angenähert werden.

2.3 Auswertung der Mikroskopiebilder

In den Experimenten wurden Aktin-Filamente und Mikrokanäle in einem Fluoreszenz-Mikroskop beobachtet. Dabei wurden Videos mit der Software OpenBox [20] direkt digital aufgezeichnet und konnten mit MATLAB analysiert werden.

2.3.1 Erfassung der Filamentkonformation

Um die Filamentkonformation aus den aufgenommenen Videos zu bestimmen, wurden die Einzelbilder der Videos in ein selbst-entwickeltes Programm mit grafischer Oberfläche (siehe Abbildung 2.6) eingelesen und dargestellt. Um einen besseren Kontrast bei den Einzelbildern zu erzielen, können die Helligkeitswerte eines gemittelten Bildes des gesamten Videos von den Helligkeitswerten des aktuellen Bildes abgezogen werden. Zudem wurde ein aktueller »Non-Local Means«-Rauschfilter [21] implementiert, der das Bildrauschen der Mikroskopiebilder minimiert ohne die Abbildung von Kanten zu verschlechtern.

Mit einem manuell eingegeben Startpunkt wird die Filamentkonformation mit einem selbst-entwickelten Algorithmus grob bestimmt. Ausgehend

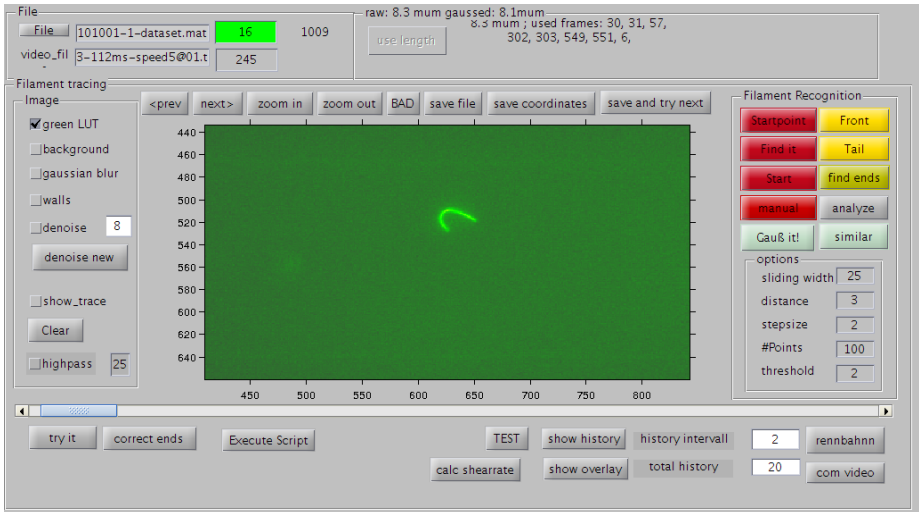


Abbildung 2.6 : Ein Programm mit grafischer Oberfläche wurde in Matlab erstellt, um die Bilddaten aus den aufgenommenen Videos zu verarbeiten. Die Konformationskoordinaten der Filamente konnten so erfasst, überprüft und korrigiert werden.

vom Startpunkt versucht der Algorithmus in einer vorgegeben Entfernung einen Punkt des Filaments zu finden. Dazu wird die Helligkeitsverteilung entlang einer zur Suchrichtung senkrecht verlaufenden Linie ausgewertet (vgl. Abb. 2.7(a)). Die Fluoreszenz-Intensität eines abgebildeten Filamentsegments ist senkrecht zur Filamentachse um seine Position in guter Näherung gaußförmig verteilt. Die Abbildung dieser Verteilung auf die Pixel der Kamera erzeugt die in Abbildung. 2.7(b) gezeigten Helligkeitsverteilungen. Die Position des Filamentsegments wird bei dem Punkt bestimmt, der mittig zwischen den beiden Punkten mit halber Helligkeit des Maximums liegt. Die Koordinaten des so bestimmten Punktes werden gespeichert und dienen als neuer Startpunkt für die Suche nach dem folgenden Filamentsegment.

Diese Schritte werden wiederholt bis die Helligkeit an den gefunden Punkten unter einen bestimmten Schwellwert fällt. Beim ersten Erreichen dieser Abbruchbedingung wird der Algorithmus am initialen Startpunkt in entgegengesetzter Richtung fortgesetzt bis die Abbruchbedingung ein zweites Mal erfüllt wird. Der so gefundene Koordinatensatz wird an den Enden nach außen extrapoliert und die Enden des Filaments werden genau an dem Punkt festgelegt, bei

dem der Helligkeitswert auf den halben mittleren Helligkeitswert der gefundenen Punkte abzüglich des Hintergrunds abgefallen ist. Die erfassten Koordinaten werden abgespeichert und im Programm zur visuellen Überprüfung bzw. Korrektur über das angezeigte Bild gelegt. In einem nachgelagerten Schritt werden die Filamentkoordinaten mit einem rechenintensiven Gauß-Fit verfeinert.

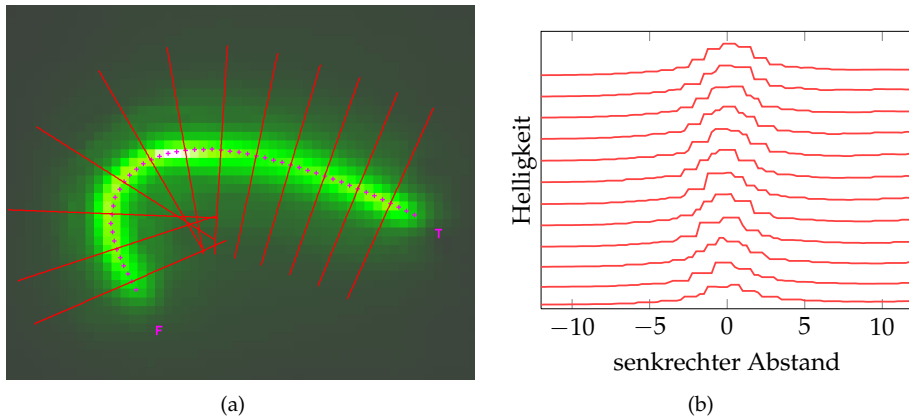


Abbildung 2.7 : (a) Aus den aufgezeichneten Videobildern konnte die Filamentkonformation (magentafarbene Kreuze) erfasst werden, indem die Helligkeitsverteilung entlang von senkrecht zum Filamentsegment verlaufende Linien (rote Linien) bestimmt und ausgewertet wurde. (b) Die Helligkeitsverteilung entlang der in (a) gezeigten Linien weisen eine annähernd Gauß-förmige Verteilung auf, woraus die Filamentposition mit einem Fit bestimmt werden kann.

2.3.2 Kanalerkennung

Für die Experimente in Abschnitt 4 werden die Positionen der Kanalwände benötigt, um die Scherrate zu bestimmen. Daher werden aus den aufgezeichneten Videos mit einem selbst-entwickelten Algorithmus die Wandpositionen bestimmt.

Bei den Experimenten wurde die Position des motorisierten Mikroskoptisches mit einem Zeitstempel aufgezeichnet und kann daher mit dem Zeitstempel der Videobilder abgeglichen werden. Mit diesen Informationen werden die Einzelbilder passgenau übereinandergelegt, sodass die aufgezeichneten Bildausschnitte eines Punktes das gemittelte Abbild dieses Punktes ergeben. Durch

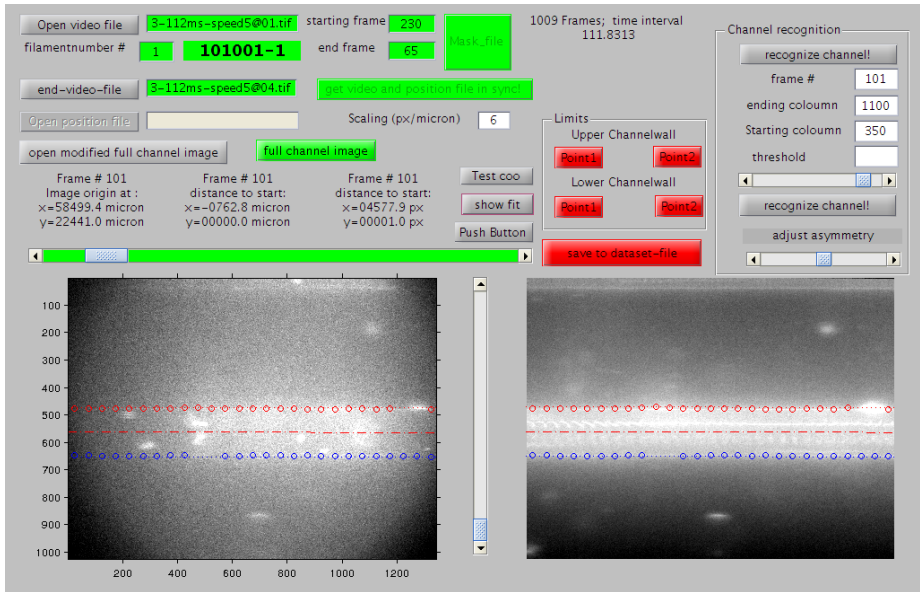


Abbildung 2.8 : Mit einem selbst-erstellten Programm mit grafischer Oberfläche werden die Zeitinformationen von den Videobildern und den protokollierten Koordinaten des motorisierten Mikroskoptischs eingelesen und abgeglichen. Aus diesen Daten wird ein rauscharmes Gesamtbild des Videos erstellt, aus dem die Position der beiden Kanalwände bestimmt und visualisiert (siehe rote und blaue Kreise) wird. Die erfassten Punkte werden linear gefittet und abgespeichert.

diese Mittelung wird ein stark rauschreduziertes Gesamtbild des Kanals erzeugt in dem sich die Kanalstrukturen durch den scharfen Helligkeitsanstieg erkennen lassen (vgl. Abb. 2.9).

Mit einem selbst-programmierten Algorithmus wird die Position des Anstiegs entlang der Pixelspalten des Bildes bestimmt und zur visuellen Kontrolle über das Bild gelegt. Die so bestimmten Punkte werden dann mit einer Gerade gefittet, woraus sich die Wandposition in jedem Einzelbild des Videos berechnen lässt.

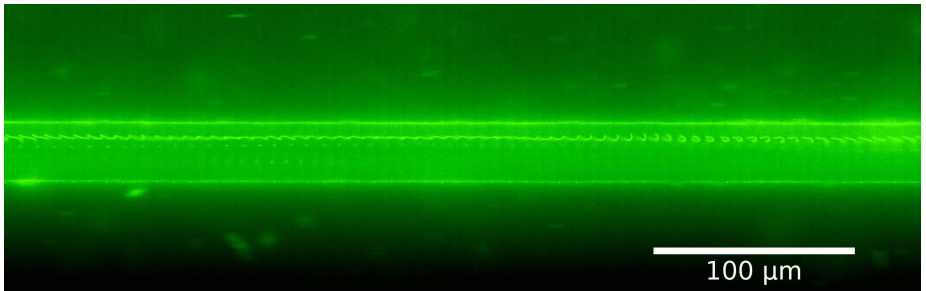


Abbildung 2.9: Aus dem aufgezeichneten Video und den protokollierten Positionsdaten wird ausschnittsweise das gezeigte rauscharme Gesamtbild berechnet. Die Kanalwände sind als durchgängige helle Grüne Linien erkennbar und ihre Position wird anhand des Helligkeitsanstiegs bestimmt. Das beobachtete Filament ist als Überlagerung der Einzelbilder zwischen beiden Wänden zu sehen.

Kapitel 3

Diffusionseigenschaften und Dynamik von Polymeren im Gleichgewicht

Aufgrund der thermischen Bewegung der Lösungsmittelmoleküle sind die einzelnen Untereinheiten von linearen Polymeren fluktuierenden Kräften ausgesetzt, die in Richtung und Stärke zufällig auftreten. Dadurch verändert sich die Konformation von Polymeren im thermischen Gleichgewicht laufend. Ein sehr biegsames Polymer wird durch die thermischen Fluktuationen auf kleinen Abschnitten der Polymerkette sehr stark gebogen, wodurch sich im thermischen Gleichgewicht sehr viele energetisch zugängliche Konformationsmöglichkeiten ergeben. Solche flexiblen Polymere tendieren dazu aus komplett gestreckten Konformationen in ungeordnetere Konformationen überzugehen und werden daher auch als entropische Federn bezeichnet [22]. Je nach der Biegesteifigkeit der Polymerkette können Polymere schwach gebogene, stark gebogene oder aufgeknaulte Konformationen aufweisen. Jedoch erscheinen alle Polymersegmente als stabartig, solange die betrachtete Polymersegmentlänge klein genug gewählt wird. Die Persistenzlänge eines Polymers gibt hier ein Maß an, unterhalb dessen sich ein Polymer oder Polymersegment im thermischen Gleichgewicht wie ein stabartiges Polymer verhält.

Für semiflexible Polymere wie Aktin-Filamente mit einer Persistenzlänge von $L_p = 16 \mu\text{m}$ und Konturlängen von $1 - 100 \mu\text{m}$ zeigt sich mit steigender Konturlänge ein Übergang von stabartigem zu flexiblem Verhalten. Bei längeren Filamenten als die Persistenzlänge dominieren Biegefluktuationen die auftretenden Konformationen, welche bei kürzeren Filamenten eher als schwach gebogene Stäbe zu beobachten sind. Die Änderung der Konformationseigenschaften von semiflexiblen Aktin-Filamenten im Gleichgewicht mit zunehmender Länge sind experimentell und theoretisch [6, 23] beschrieben. Für die Diffusionseigenschaf-

ten von Aktin-Filamenten wird jedoch die Näherung für ein stabartiges Polymer verwendet [24] und der Einfluss der Biegefluktuationen wird vernachlässigt.

Eine genauere Untersuchung der Diffusionseigenschaften von semiflexiblen Polymeren wurde in [25] beschrieben, wobei der Einfluss der höheren (verallgemeinerten) Biegemoden berücksichtigt und mit experimentellen Daten verglichen wurde. Bei dem Vergleich von der darin entwickelten Theorie mit den zugehörigen FCS¹-Messungen von Diffusionsbewegung von 0,5, 1, 2 und 10 μm langen Aktin-Filamenten ergab sich jedoch ein quantitativ abweichendes Ergebnis. So wurde die Zeitskala um den Faktor 1,7 gestaucht und die Konturlänge der Filamente wurde als Fitparameter frei gewählt, um die experimentellen Daten bestmöglich beschreiben zu können.

Die Diffusion, und hier speziell die Rotationsdiffusion, legt die Zeitskala der Orientierung von Aktin-Filamenten fest, was für komplexe Bewegungsabläufe [26, 4] von besonderem Interesse ist. Eine Beschreibung der Rotationsdiffusion von Aktin-Filamenten unter Berücksichtigung der Biegefluktuationen ist daher nötig, und wird im Folgenden mit numerischen und mikroskopischen Methoden untersucht und charakterisiert.

3.1 Rotationsdiffusion

Die Rotationsdiffusion bezeichnet die Fluktuation der Orientierungsrichtung eines Polymers, welche durch thermische Fluktuationen entsteht. Betrachtet man einen steifen Stab im Schwerpunktsystem, beschreibt die Spitze seines Orientierungsvektors eine Diffusionsbewegung auf der Oberfläche einer Kugel (vgl. Abb. 3.1). Diese Diffusionsbewegung ist für steife Stäbe nach [9] und [27] in ihrem zweiten Moment analytisch beschreibbar. Für die Rotationsdiffusion von flexibleren Polymeren ergeben sich Abweichungen, die hier quantifiziert und an verschiedenen Polymer-Modellen getestet werden. Dazu wird der End-zu-End-Vektor R_{ee} betrachtet, welcher vor allem bei flexibleren Polymeren nicht nur in seiner räumlichen Orientierung sondern auch in seiner Länge fluktuieren kann. Diese Längen-Fluktuationen werden hier vernachlässigt, und es wird im folgenden allein der Einfluss der Steifigkeit auf das Rotationsdiffusionsverhalten untersucht (vgl. Abb. 3.1).

Um die Rotationsdiffusion des End-zu-End-Vektors R_{ee} zu untersuchen,

¹FCS engl. Fluorescence correlation spectroscopy

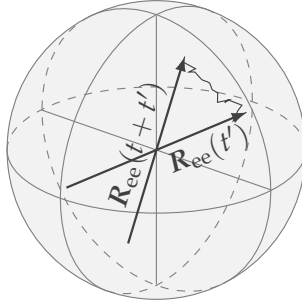


Abbildung 3.1 : Die Rotationsdiffusion eines stabartigen Polymers beschreibt eine ungerichtete Änderung der Orientierung des End-zu-End-Vektors $\mathbf{R}_{ee}(t)$, was einer Diffusionsbewegung eines Punktes auf der Oberfläche einer Kugel entspricht (siehe dünne schwarze Linie).

wurde dessen *mittlere quadratische Rotationsverschiebung*² rMSD

$$\text{rMSD}(t) = \left\langle \left(\mathbf{R}_{ee}(t+t') - \mathbf{R}_{ee}(t') \right)^2 \right\rangle_{t'} \quad (3.1)$$

berechnet. Für lange Beobachtungszeiten t gilt

$$\left\langle \mathbf{R}_{ee}^2(t+t') \right\rangle_{t'} = \left\langle \mathbf{R}_{ee}^2(t') \right\rangle_{t'} = \left(R_{ee}^{\text{eq}} \right)^2. \quad (3.2)$$

Bei Berechnung des Quadrats in Gleichung 3.1 ergibt sich der Zusammenhang mit der Autokorrelationsfunktion $\left\langle \mathbf{R}_{ee}(t+t') \mathbf{R}_{ee}(t') \right\rangle_{t'}$

$$\text{rMSD}(t) = 2 \left(\left(R_{ee}^{\text{eq}} \right)^2 - \left\langle \mathbf{R}_{ee}(t+t') \mathbf{R}_{ee}(t') \right\rangle_{t'} \right). \quad (3.3)$$

Aufgrund der stochastischen Natur der Rotationsdiffusion ist die Orientierung des End-zu-End-Vektors $\mathbf{R}_{ee}(t)$ zum Zeitpunkt t für große $t - t'$ unabhängig von der Orientierung zum Zeitpunkt t' . Für lange Zeiten stehen daher im Mittel $\mathbf{R}_{ee}(t+t')$ und $\mathbf{R}_{ee}(t')$ senkrecht aufeinander, wodurch die Autokorrelationsfunktion $\left\langle \mathbf{R}_{ee}(t+t') \mathbf{R}_{ee}(t') \right\rangle_{t'}$ verschwindet. Somit strebt die mittlere quadratische Rotationsverschiebung für lange Zeiten gegen den Wert $2 \left(R_{ee}^{\text{eq}} \right)^2$.

²engl. *rotational-mean-squared-displacement* (kurz **rMSD**)

Bei kurzen Zeiten nimmt die Autokorrelationsfunktion ebenfalls diesen Wert an $\langle \mathbf{R}_{ee}(t \rightarrow t') \mathbf{R}_{ee}(t') \rangle_{t'} = \left(R_{ee}^{\text{eq}} \right)^2$, wodurch die mittlere quadratische Rotationsverschiebung verschwindet.

3.1.1 Rotationsdiffusion stabartiger Polymere

Die mittlere quadratische Rotationsverschiebung für den Einheitsorientierungsvektor von stabartigen Molekülen wurde in [9] beschrieben, und kann in das rMSD des End-zu-End-Vektors umgerechnet werden. Mit der Rotationsrelaxationszeit τ_{rod} eines stabartigen Polymers der Länge L_c ergibt sich das rMSD_{rod} zu

$$\text{rMSD}_{\text{rod}}(t) = 2L_c^2 \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_{\text{rod}}}\right) \right). \quad (3.4)$$

Für kleine Zeiten $t \ll \tau_{\text{rod}}$ lässt sich die Exponentialfunktion durch $1 - t/\tau_{\text{rod}}$ nähern, wodurch sich für die mittlere quadratische Rotationsverschiebung eine lineare Zeitabhängigkeit ergibt.

$$\text{rMSD}_{\text{rod}}(t) = \frac{2L_c^2}{\tau_{\text{rod}}} \cdot t \quad \text{für} \quad t \ll \tau_{\text{rod}} \quad (3.5)$$

Der Wert der Rotationsrelaxationszeit τ_{rod} ergibt sich über Rotationsdiffusionskoeffizienten $D_{\text{rod}} = \frac{1}{2\tau_{\text{rod}}}$. Mit der Definition nach [9] $D_{\text{rod}} = \frac{12k_B T}{c_{\perp} L_c^3}$ lässt sich der Wert berechnen, wobei c_{\perp} den Reibungskoeffizienten $c_{\perp} = \frac{4\pi\eta}{\ln(L_c/D)}$ in senkrechter Richtung zur Stabachse, η die Viskosität des Lösungsmittels und D den Polymerdurchmesser bezeichnet.

3.1.2 Rotationsdiffusion flexibler Polymere

Die Eigenschaften von flexiblen Polymeren können bei Vernachlässigung hydrodynamischer Wechselwirkungen durch die Rouse-Theorie [28] beschrieben werden. Die Rouse-Theorie beschreibt flexible Polymere als Kugelkette aus N -Kugeln die durch $N - 1$ harmonische Federn mit dem Gleichgewichtsabstand b miteinander verbunden sind und thermisch fluktuieren. Jede Kugel besitzt einen Reibungskoeffizienten von ζ_{bead} . Das Modell vernachlässigt die hydrodynamische Wechselwirkung der Kugeln untereinander. Die Bewegung einer Rouse-Kette entspricht der brownischen Bewegung gekoppelter Oszillatoren und kann durch die Zerlegung in Normalkoordinaten, den sog. *Rouse-Moden*,

gelöst werden. Die Relaxationszeiten der Rouse-Moden sind voneinander abhängig, wobei die Relaxationszeit der p -ten Rouse-Mode durch die Relation $\tau_p = \tau_1 / p^2$ gegeben ist. Die Relaxationszeit der ersten Rouse-Mode τ_1 , welche in [9] auch explizit als Rotations-Relaxations-Zeit *definiert* wird, ist nach [9] gegeben durch:

$$\tau_1 = \frac{\zeta_{\text{bead}} N^2 b^2}{3\pi^2 k_B T} \quad (3.6)$$

mit der Boltzmannkonstante k_B und der absoluten Temperatur T . Die Autokorrelationsfunktion des End-zu-End-Vektors \mathbf{R}_{ee} ist nach [9] durch

$$\langle \mathbf{R}_{ee}(t) \mathbf{R}_{ee}(0) \rangle = Nb^2 \sum_{p=1,3,\dots} \frac{8}{p^2 \pi^2} \exp\left(-\frac{t}{\tau_p}\right) \quad (3.7)$$

gegeben. Für $t = 0$ ist $\langle \mathbf{R}_{ee}(t) \mathbf{R}_{ee}(0) \rangle = \left(R_{ee}^{\text{eq}}\right)^2 = Nb^2$ da $\sum_{p=1,3,\dots} \frac{8}{p^2 \pi^2} = 1$.

Daraus und aus Gleichung 3.3 folgt somit für die mittlere quadratische Rotationsverschiebung einer Rouse-Kette

$$\text{rMSD}_{\text{Rouse}}(t) = 2 \left(R_{ee}^{\text{eq}}\right)^2 \left(1 - \sum_{p=1,3,\dots} \frac{8}{p^2 \pi^2} \exp\left(-\frac{t}{\tau_p}\right)\right). \quad (3.8)$$

Die Berücksichtigung der höheren Rouse-Moden führt zur Änderung der Steigung wie in Abbildung 3.2 dargestellt. Berücksichtigt man sehr viele Rouse-Moden steigt das rMSD für kleine Zeiten ($t \ll \tau_1$) proportional zu $\propto t^{1/2}$ an, was genau dem intramolekularen Diffusionsverhalten einer Rouse-Kette entspricht [29].

3.1.3 Rotationsdiffusion im Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette

Beim Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette [30, 12, 25] wird ein Polymer der Länge L_c durch eine Kette von N Kugeln beschrieben, deren mittlerer quadratischer Abstand konstant ist $\langle (r_i - r_{i+1})^2 \rangle = l^2$ mit $l = L_c/N$. Beim Übergang in die kontinuierliche Beschreibung ($N \rightarrow \infty$) ergibt sich eine kontinuierliche, differenzierbare Raumkurve $\mathbf{r}(s, t)$ mit dem Konturparameter $s \in [-L_c/2; L_c/2]$ zum Zeitpunkt t . Aus der Lagrange-Mechanik ergibt sich daraus die Bewegungsgleichung für jeden Punkt auf der Raumkurve. Die

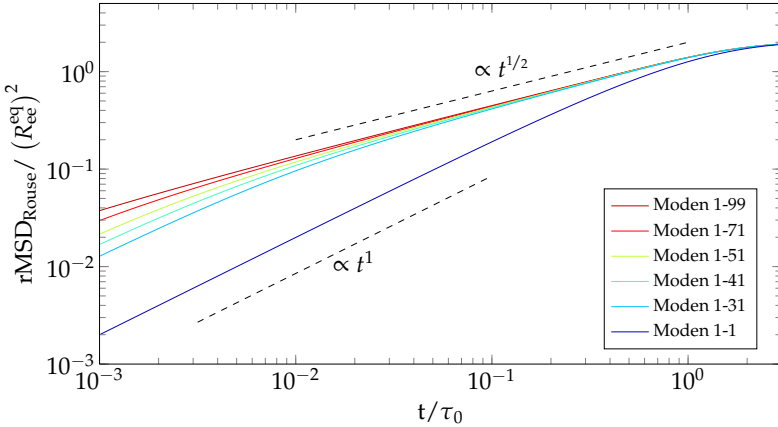


Abbildung 3.2 : Der Einfluss der höheren Rouse-Moden auf den Verlauf des rMSD wirkt sich auf die Anfangssteigung vor dem Knickpunkt bei $t = \tau_1$ aus. Berücksichtigt man viele höhere Moden, ist eine Steigung proportional zu $t^{1/2}$ beobachtbar.

Bewegungsgleichung einer solchen Kette kann mit den in [25] genannten Randbedingungen durch eine Zerlegung $\mathbf{r}(s, t) = \sum_{l=0}^{\infty} \chi_l(t) \psi_l(s)$ in Normalmoden mit den Eigenfunktionen $\psi_l(s)$ und deren Amplituden $\chi_l(t)$ gelöst werden. Die zugehörigen Eigenwerte ζ_l ergeben sich dann aus der Bewegungsgleichung und erfüllen die Gleichung $\zeta_l = k_B T (\epsilon \zeta_l^4 + 2\nu \zeta_l^2)$ mit dem Eigenfunktionsparameter ζ . ζ wiederum ist durch die Normierungsbedingung $\int_{-L/2}^{L/2} \psi_l(s) \psi_m(s) ds = \delta_{lm}$ und durch die Persistenzlänge L_p festgelegt.

Bei Vernachlässigung hydrodynamischer Wechselwirkungen lassen sich aus diesen Bedingungen die Relaxationszeiten via $\tau_l = \gamma / \zeta_l$ mit Längen-Reibungskoeffizienten $\gamma = 3\pi\eta$ numerisch auswerten. Die Berechnung der Relaxationszeiten τ_l aus den Eigenwerten ζ_l ist via $\tau_l(\hat{d}) = \gamma / \zeta_l(\hat{d})$ abhängig von Dimensionalität des Systems.

Daraus können die Relaxationszeiten τ_l der ersten drei Normalmoden für einen großen Steifigkeitsbereich $L_c/L_p = 10^{-2} \dots 10^3$ berechnet werden. Als Beispiel sind die Relaxationszeiten der ersten drei Moden in Abbildung 3.3 dargestellt. Im Unterschied zur Theorie stabartiger Polymere und zur Rouse-Theorie verändern sich die Relaxationszeiten kontinuierlich beim Übergang

von steifen Polymeren $L_c/L_p \ll 1$ zu flexiblen Polymeren $L_c/L_p \gg 1$. Die Relaxationszeiten stimmen dabei im Limit flexibler Polymere mit den Rouse-Relaxationszeiten ($\tau_l \propto L_c^2 l^{-2}$) überein. Im Limit steifer Polymere stimmt die Relaxationszeit der ersten Mode mit der Relaxationszeit eines stabartigen Polymers überein [25]. Die Relaxationszeiten der höheren Moden weisen dieselben Abhängigkeiten ($\tau_l \propto L_c^4 (2l-1)^4$) wie die Relaxationszeiten der Biegemoden nach (vgl. [6]) auf.

Im Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette kann das theoretische Zeitverhalten des rMSD des End-zu-End-Vektors berechnet werden (siehe Herleitung im Anhang Abschnitt 1.2).

$$\text{rMSD}_{\text{Gauss}}^{\text{BD}} = 2 \left(R_{\text{ee}}^{\text{eq}} \right)^2 \left(1 - \frac{4\hat{d}k_B T}{\gamma} \frac{\tau_1 \psi_1^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right)}{\left(R_{\text{ee}}^{\text{eq}} \right)^2} e^{-t/\tau_1} - \frac{\sum_{l=3,5,7,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) e^{-t/\tau_l}}{\sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_n \psi_n^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) e^{-t/\tau_n}} \right) \quad (3.9)$$

Nach [25] wird die Relaxation relativ steifer Filamente entlang der Filamentkontur für die dynamischen Eigenschaften vernachlässigt (in Übereinstimmung mit Überlegungen aus [31]). Dadurch reduziert sich bei der Berechnung von den τ_l -s die Dimensionalität \hat{d} um eins. Hierbei ist zu beachten, dass nach [25] bei den Gleichgewichtseigenschaften die volle Dimensionalität des Systems berücksichtigt werden muss. Somit sind die Relaxationszeiten in den Exponentialfunktionen mit einer reduzierten Dimensionalität zu berechnen im Vergleich zu den Relaxationszeiten in den Vorfaktoren.

Bei Berücksichtigung hydrodynamischer Wechselwirkungen ergeben sich Änderungen an den Korrelationsfunktionen der einzelnen Amplituden, sodass die l -te Mode mit der veränderten Relaxationszeit $\tilde{\tau}_l$ relaxiert. Die $\tilde{\tau}_l$ berechnen sich aus den τ_l -s über $\tilde{\tau}_l = \tau_l / (1 + \gamma Q_{ll})$ und sind in Abbildung 3.3 dargestellt, wobei Q_{ll} die Diagonalelemente des Oseen-Tensors bezeichnen (vgl. [25]). Somit ergibt sich (Herleitung siehe Anhang 1.2) für die Gauß'sche semiflexible Kette ein Zeitverhalten für die mittlere quadratische Rotationsverschiebung des

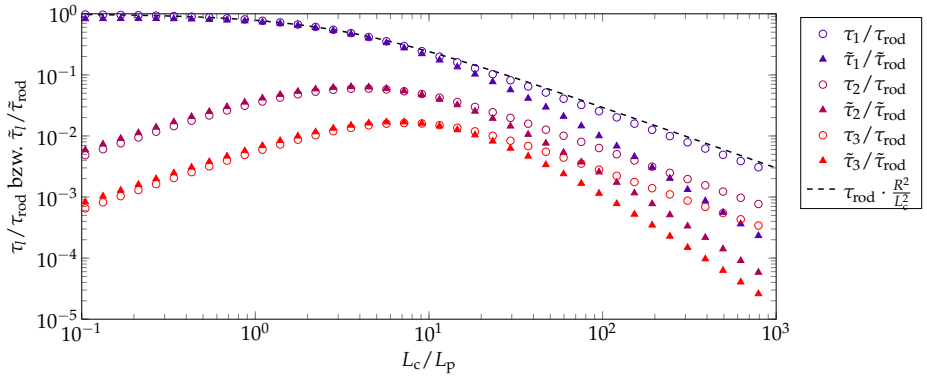


Abbildung 3.3 : Die Verläufe der Relaxationszeiten $\tilde{\tau}_l$ bzw. τ_l mit bzw. ohne Berücksichtigung der hydrodynamischen Wechselwirkungen wurden im Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette für die ersten drei Moden numerisch in Abhängigkeit der Konturlänge L_c für eine feste Persistenzlänge von $L_p = 16 \mu\text{m}$ ausgewertet. Alle Werte wurden mit den Relaxationszeiten eines stabartigen Polymers mit veränderlicher Konturlänge mit bzw. ohne Berücksichtigung der hydrodynamischen Wechselwirkungen $\tilde{\tau}_{\text{rod}}$ bzw. τ_{rod} normiert. Die gestrichelte Linie zeigt eine analytische Näherungsformel der Relaxationszeit der ersten Mode aus Abschnitt 4.3.3.

End-zu-End-Vektors:

$$\text{rMSD}_{\text{Gauss}}^{\text{HI}} = 2 \left(R_{\text{ee}}^{\text{eq}} \right)^2 \left(1 - \frac{4\hat{d}k_{\text{B}}T}{\gamma} \frac{\tau_1 \psi_1^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right)}{\left(R_{\text{ee}}^{\text{eq}} \right)^2} e^{-t/\tilde{\tau}_1} - \frac{\sum_{l=3,5,7,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) e^{-t/\tilde{\tau}_l}}{\sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_n \psi_n^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) e^{-t/\tilde{\tau}_n}} \right). \quad (3.10)$$

3.2 Messung der Rotationsdiffusion von Aktin-Filamenten

3.2.1 Experimenteller Aufbau und Durchführung

Aktin wurde nach Abschnitt 2.1 polymerisiert und mit einer Pufferlösung (2 mM Tris, 0.5 mM ATP, 2 mM MgCl_2 , 0.2 mM CaCl_2 , 0.1 M KCl, 0.2 mM DTT, pH 7.5) verdünnt, die zudem 45.5% (w/v) Sucrose und 1 mM Ascorbin-Säure enthält.

Diese Lösung wurde mit einer Lösung von Polystyrol-Kugeln (Durchmesser $0.81\ \mu\text{m}$) gemischt, sodass sich eine Aktinkonzentration von $10 - 20\ \text{nM}$ ergab. Die Aktin-Filamente wurden vorher mit Alexa-488-Phalloidin stabilisiert und fluoreszenz-markiert, wobei pro Aktin Molekül ein Alexa-488-Phalloidin Molekül in der Lösung enthalten war. Die Ascorbin-Säure wurde als Radikalfänger eingesetzt um photoinduzierte Bleich- und Schadeffekte³ zu vermindern.

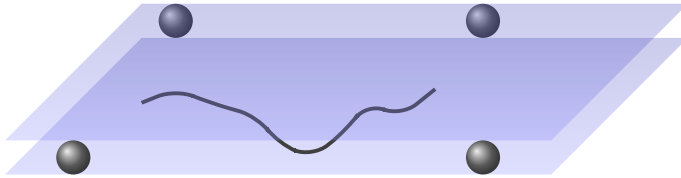


Abbildung 3.4 : Die Beobachtungskammer der Aktin-Filamente besteht aus zwei übereinanderliegenden Deckgläsern. Die in der Aktin-Lösung enthaltenen Polystyrol-Kugeln vom Durchmesser $0.81\ \mu\text{m}$ dienen als Abstandshalter für einen gut definierten Abstand der Deckgläser. Die beobachteten Aktin-Filamente sind in ihrer Höhe so auf den Durchmesser einer Kugel beschränkt, dass eine quasi-2D-Bewegung der Filamente beobachtet werden kann.

Ein Tropfen der Lösung wurde auf ein Deckglas gegeben und ein zweites Deckglas wurde darauf gepresst. Mit den enthaltenen Polystyrol-Kugeln konnte zwischen beiden Deckgläsern ein Abstand von ihrem Durchmesser realisiert werden (siehe Abbildung 3.4). Die enthaltenen Aktin-Filamente wurden damit in ihrer Bewegungsfreiheit in einer Dimension stark beschränkt, sodass effektiv nur eine zweidimensionale Diffusion beobachtet werden kann (vgl. [23]). Die Aktin-Filamente wurden dann in einem Fluoreszenz-Mikroskop (Zeiss Axiovert 100) fokussiert und waren somit durch die Deckgläser in ihrer Bewegung auf die Fokusebene des Mikroskop beschränkt. Die Konzentration der Kugeln war dabei so gering, dass die beobachteten Aktin-Filamente nicht durch die Kugeln nicht in ihrer quasi-zweidimensionalen Bewegungsfreiheit eingeschränkt wurden.

3.2.1.1 Bestimmung der Persistenzlänge

Um die in Gleichung 3.10 erwähnten Eigenmoden und Relaxationszeiten numerisch zu berechnen, ist die Persistenzlänge ein zentraler Wert. In der

³engl. *photo-damage*

Literatur finden sich jedoch sehr unterschiedliche Werte von der Persistenzlänge von Aktin-Filamenten und es wurde eine starke Abhängigkeit von der Stabilisierung durch Phalloidin beobachtet [23]. Daher wird im Folgenden die Persistenzlänge mit einer unabhängige Kontrollmessung bestimmt.

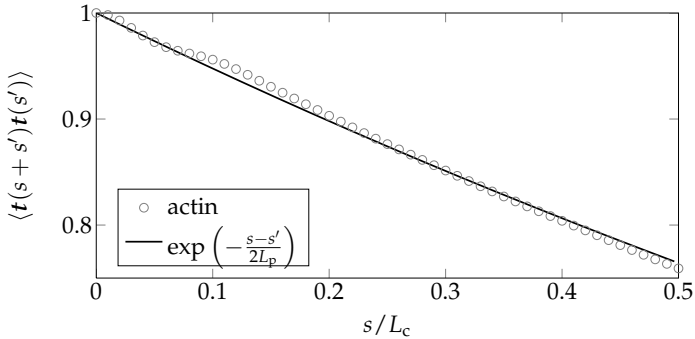


Abbildung 3.5 : Die gemittelte Korrelationsfunktion der Tangentenvektoren $\mathbf{t}(s)$ (graue Kreise) fällt entlang der Kontur $s \in [0; L_c]$ ab und kann mit einer Exponentialfunktion (schwarze Linie) als Fit-Funktion gut genähert werden.

Nach [6] besitzt die gemittelte Auto-Korrelationsfunktion des Tangentenvektors $\mathbf{t}(s)$ mit $s \in [0; L_c]$ bei zwei erfassten Dimensionen einen charakteristischen Abfall gemäß

$$\langle \mathbf{t}(s+s')\mathbf{t}(s') \rangle_{s'} = \exp\left(-\frac{s-s'}{2L_p}\right). \quad (3.11)$$

Aus den experimentell erfassten Konformationsdaten $\mathbf{r}(s, t)$ wurde die gemittelte Autokorrelationsfunktion der Tangentenvektoren berechnet und mit einer Exponentialfunktion gefittet. Die Konturlänge wurde bei mehreren ausgewählten Bildern mit guten Kontrasteigenschaften bestimmt. Aus dem Fit ergab sich für beide vermessenen Aktin-Filamente die Persistenzlänge ein Wert von $L_p \sim 15 \pm 2 \mu\text{m}$. Innerhalb der Messunsicherheit stimmt dieser Wert gut mit dem Literaturwert [32] von $16.1 \mu\text{m}$ überein.

3.2.1.2 Bestimmung der effektiven Viskosität

Die Reibung zwischen Polymer und Flüssigkeit entsteht in der unmittelbaren Umgebung des Polymers, wobei nach [33] die Stärke der Dissipation pro Volumen in freier Lösung mit dem Abstand in der vierten Potenz abfällt. Die

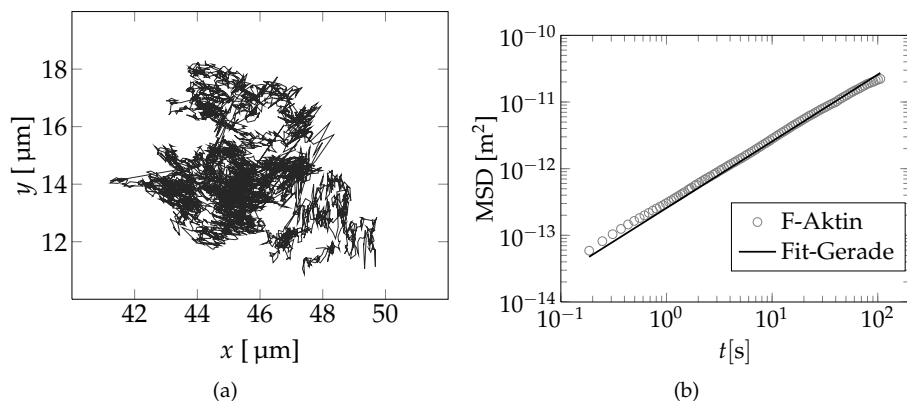


Abbildung 3.6 : (a) Die Trajektorie des Filament-Schwerpunkts eines Aktin-Filaments zeigt einen zufälligen und ungerichteten Bewegungsverlauf. (b) Der Verlauf der mittleren quadratischen Verschiebung des Filamentschwerpunkts MSD kann gut mit einer Fit-Geraden angenähert werden.

Anwesenheit einer starren Grenzfläche nahe des Polymers verändert diese Bedingungen im Vergleich zur freien Lösung signifikant, wodurch sich für die Reibung Unterschiede ergeben. Mit dem verwendeten Versuchsaufbau können diese anisotropen Randeffekte im Experiment auftreten, da das Aktin-Filament durch die beiden Deckgläser in einer Dimension auf eine Höhe von ca. $0.81 \mu\text{m}$ beschränkt wird. Nach [33] können diese Effekte mit einem angepassten Reibungskoeffizienten berücksichtigt werden, der den Abstand des Filaments vom Deckglas berücksichtigt. Alternativ wird hier ohne Kenntnis des Abstands zwischen Polymer und Deckglas der Längen-Reibungs-Koeffizient γ aus den N erfassten Konformationskoordinaten $\mathbf{r}_n(t)$ mit $n \in [1; N]$ gemessen, und der Unterschied zum Längen-Reibungs-Koeffizienten in freier Lösung wird durch die Einführung einer effektiven Viskosität berücksichtigt.

Um den Längen-Reibungs-Koeffizient zu bestimmen, wird die Diffusion des Filamentschwerpunkts $\mathbf{R}_{\text{com}}(t) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \mathbf{r}_n(t)$ eines Aktin-Polymers betrachtet. Die erfasste Bewegung des Polymerschwerpunktes eines Aktin-Filaments ist in Abbildung 3.6(a) dargestellt und zeigt eine zufällige und ungerichtete Bewegung. Analog zu Abschnitt 3.2.2 lässt sich für diese Bewegung die mittlere

quadratische Verschiebung⁴ des Polymerschwerpunkts MSD berechnen.

$$\text{MSD}(t) = \left\langle (\mathbf{R}_{\text{com}}(t+t') - \mathbf{R}_{\text{com}}(t'))^2 \right\rangle_{t'} \quad (3.12)$$

Der Verlauf des MSD (siehe Abb. 3.6(b)) zeigt hierbei ein annähernd lineare Zeitabhängigkeit und damit eine gute Übereinstimmung mit einer Fit-Geraden. Das theoretische Verhalten des MSD ergibt sich analog nach [9, 25] für ein stabartiges Polymer in zwei Dimensionen zu

$$\left\langle (\mathbf{R}_{\text{com}}(t+t') - \mathbf{R}_{\text{com}}(t'))^2 \right\rangle_{t'} = 2(D_{\parallel}^{\text{com}} + 2D_{\perp}^{\text{com}})t = \quad (3.13)$$

$$= 6 \frac{k_B T}{c_{\perp} L_c} \cdot t \quad (3.14)$$

mit dem Diffusionskoeffizienten $D_{\perp, \parallel}^{\text{com}}$ senkrecht (\perp) bzw. parallel (\parallel) zur Polymerachse. Der Längen-Reibungs-Koeffizient $c_{\perp} = 4\pi\eta / \ln(L_c/d)$ berücksichtigt intramolekulare hydrodynamische Effekte und ist für ein frei diffundierendes Polymer abhängig vom Polymerdurchmesser d und der Viskosität η .

Die Nähe zur Oberfläche des Deckglases beeinflusst die Reibungseigenschaften des umgebenden Mediums, wodurch sich die Abhängigkeit von c_{\perp} vom aktuellem Abstand $h(t)$ zwischen Polymer und Oberfläche ergibt. Daher muss in Gleichung 3.14 der abstandsabhängige Reibungskoeffizient verwendet werden :

$$c_{\perp}^h(h(t)) = \frac{4\pi\eta}{\ln(h(t)/d)}. \quad (3.15)$$

Der Einfluss der nahen Deckgläser auf das Polymer kann somit durch den Unterschied zwischen $c_{\perp}^h(h(t))$ und c_{\perp} quantifiziert werden. Unter der Annahme, dass der Einfluss der Deckgläser auf die Reibung unabhängig von den intramolekularen hydrodynamischen Wechselwirkungen ist, wird eine effektive mittlere Viskosität $\langle \eta(h(t)) \rangle \equiv \eta_{\text{eff}}$ eingeführt. Mit dieser effektiven Viskosität kann die Reibung auf das Polymer in der Versuchskammer beschrieben und der abstandsabhängige Reibungskoeffizient auf c_{\perp} via $\langle c_{\perp}^h(h(t)) \rangle = c_{\perp}(\eta_{\text{eff}})$ zurückgeführt werden. Der Längen-Reibungs-Koeffizient γ (vgl. Gleichung 3.10), welcher die intramolekularen hydrodynamischen Wechselwirkungen vernachlässigt, ergibt sich folglich zu

$$\gamma = 3\pi\eta_{\text{eff}} \quad (3.16)$$

⁴engl. Mean Squared Displacement. kurz MSD

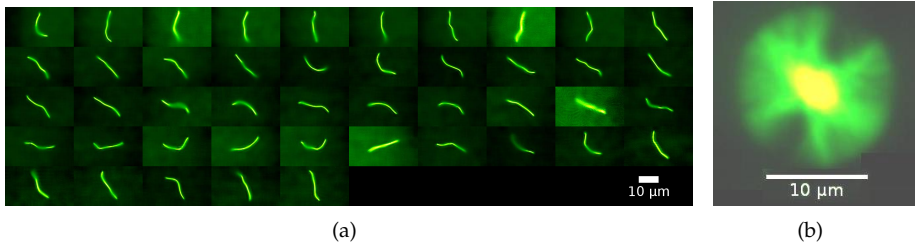


Abbildung 3.7 : (a) Montage der Konformationen eines $16\ \mu\text{m}$ langen Aktin-Filaments in Gleichgewicht. Die Beschränkung des Filaments auf effektiv zwei Dimensionen durch den Versuchsaufbau ermöglicht eine kontinuierliche Beobachtung des Filaments in der Fokalebene des Mikroskops. Neben den Biegefluktuationen ist die Rotationsfluktuation des gesamten Filaments erkennbar. (b) Bei der Überlagerung vieler Einzelbilder im Schwerpunktsystem des Aktin-Filaments ist der Winkelbereich erkennbar, durch den das Filament während der Beobachtungszeit diffundiert.

Mit einer Fitgeraden kann η_{eff} und somit γ bestimmt werden. Als Ergebnis für η_{eff} ergab sich ein 3-fach höherer Wert als die Viskosität des verwendeten Lösungsmittels ($\sim 8\ \text{mPa}\cdot\text{s}$).

3.2.2 Auswertung der Messung

Die Bewegung zweier Aktin-Filamente wurde jeweils in einem Mikroskop beobachtet (vgl. Abb. 3.7) und gleichzeitig wurden mit einer digitalen Kamera (Hamamatsu Orca ER) Videos aufgezeichnet. Der Bewegung der Aktin-Filamente konnte manuell mit einem motorisiertem Mikroskoptisch gefolgt werden, um die Filamente im Bildausschnitt der Kamera zu halten. Dabei wurde während der gesamten Beobachtungsphase die Position des motorisierten Tisches aufgezeichnet. Die Kontur-Informationen des Aktin-Filaments konnten, wie in Abschnitt 2.3.1 beschrieben, semiautomatisch erfasst werden. Aus diesen Daten wurde die Konturlänge der Aktin-Filamente auf $L_c = 15.8\ \mu\text{m}$ und $L_c = 11.5\ \mu\text{m}$ bestimmt. Mit den Positionsinformationen des Mikroskoptisches konnten die Koordinatensätze jeweils für das gesamte Filament in das Koordinatensystem des Mikroskoptisches transformiert werden. Daraus wurde der Schwerpunkt $r_{\text{com}}(t)$, der End-zu-End-Vektor \mathbf{R}_{ee} und die gemessene Konturlänge L_c berechnet.

Bei der Mittelung $\langle \dots \rangle_t$ wird für jede Zeit t über eine unterschiedliche Anzahl

an Einzelbilder $t \in [0; T_t - t]$ gemittelt. Um eine unzureichende Statistik für große Werte von t zu vermeiden, wurde t nur bis maximal 10% der gesamten Beobachtungsdauer T_t ausgewertet. Aufgrund der langen Beobachtungszeiträume mit bis zu $17 \cdot 10^3$ Einzelbildern ist jedoch für die längste Zeit t immer noch eine Mittelung über $15.3 \cdot 10^3$ Beobachtungszeitpunkte t möglich.

3.2.3 Verhalten der mittleren quadratischen Rotationsverschiebung des End-zu-End-Vektors

Die mittlere quadratische Rotationsverschiebung von zwei Aktin-Filamenten wurde ausgewertet und mit $(R_{ee}^{eq})^2$ normiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.8 dargestellt.

Das theoretische Verhalten eines stabartigen Polymers $rMSD_{rod} = 2(1 - \exp(-t/\tau_{rod}))$ wurde zum Vergleich in Abbildung 3.8 als gestrichelte Linie dargestellt. Im Gegensatz zum stabartigen Polymer zeigt sich vor allem für kürzere Zeiten ($t < 1$ s) ein nicht-lineares Verhalten, welches als Einfluss der Biegefluktuationen auf das Verhalten der mittleren quadratischen Rotationsverschiebung identifiziert werden kann. Bei längeren Zeiten ($t > 10$ s) ist für das $11.5 \mu\text{m}$ lange Filament ein lineares Verhalten zu beobachten, während dies bei dem $15.8 \mu\text{m}$ langen Filament nicht beobachtbar ist. Das Verhalten der beobachteten Aktin-Filamente ist somit nur für lange Zeiten mit dem Verhalten stabartiger Polymere (vgl. Gleichung 3.4) zu beschreiben. Die Beobachtungszeit ist bei Aktin-Filamenten (im Unterschied zu simulierten Polymeren) beschränkt, da die Filamente aufgrund von Licht-induzierten Effekten brechen können bzw. der Fluoreszenz-Farbstoff ausbleicht. Daher wurde der Langzeitwert $2(R_{ee}^{eq})^2$ im rMSD nicht erreicht.

Um die gemessenen Daten mit der theoretischen Vorhersage des Modells der Gauß'schen semiflexiblen Kette vergleichen zu können, wurden die Parameter τ_l , $\tilde{\tau}_l$, ψ_l aus den Werten für L_c, L_p und die Temperatur $T = 293$ K und die Dimensionalität $\hat{d} = 2$ numerisch berechnet. γ wurde in Abschnitt 3.2.1.2 und L_p in Abschnitt 3.2.1.1 aus den experimentellen Daten direkt bestimmt. Für die Relaxationszeit der ersten Mode unter Berücksichtigung hydrodynamischer Wechselwirkungen $\tilde{\tau}_l$ ergaben sich für das $11.5 \mu\text{m}$ lange bzw. für das $15.9 \mu\text{m}$ lange Filament ein Wert von 105 s bzw. 493 s, was 89% bzw. 84% der Relaxationszeit für ein gleichlanges und gleichdünnes stabartiges Polymer entspricht.

Die theoretischen Vorhersage der Gauß'schen semiflexiblen Kette für das Verhalten des rMSD (Gleichung 3.10) ist in Abbildung 3.8 als durchgezogene

Linie dargestellt. Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen der Theorie der Gauß'schen semiflexiblen Kette und der Messkurve von Aktin-Filamenten. Der Übergang zwischen der linearen Steigung bei Beobachtungszeiten um $t > 10$ s und der flacheren Steigung bei kürzeren Zeiten wird gut reproduziert.

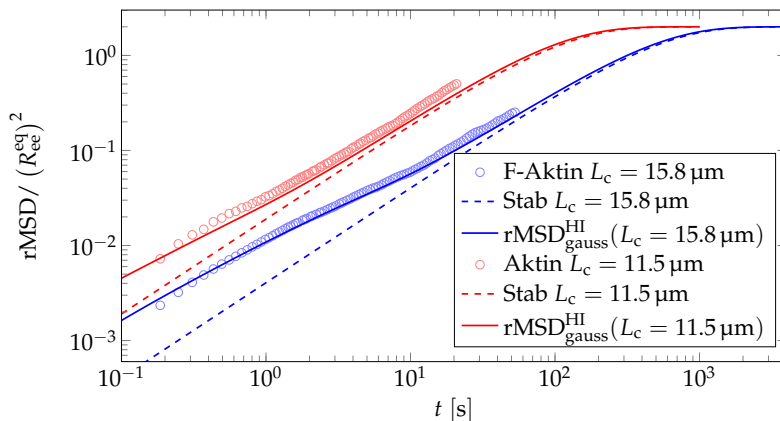


Abbildung 3.8: Die mittlere quadratische Verschiebung rMSD zweier Aktin-Filamente (bunte Kreise), das theoretische Verhalten zweier gleichlanger und gleichdünner stabartiger Polymere (gestrichelte Linien) und das Verhalten einer Gauß'schen semiflexiblen Kette (bunte durchgezogene Linien) aufgetragen gegen die Zeit t . Vor allem für kurze Zeiten weicht das rMSD der Filamente vom linearen Verhalten der stabartigen Polymere ab. Für längere Zeiten $t > 10$ s weist das kürzere Filament ein annähernd lineares Verhalten auf. Die theoretische Vorhersage des Modells der Gauß'schen semiflexiblen Kette (bunte durchgezogene Linien) stimmt gut mit den experimentellen Daten überein. Vor allem das nicht-lineare Verhalten des rMSD der Aktin-Filamente kann bei kurzen Zeiten gut mit dem Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette beschrieben werden.

Der Einfluss der höheren Moden⁵ aus dem Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette bewirkt ein nicht-lineares Verhalten des rMSD für kurze Zeiten $t \ll \tilde{\tau}_1$, welches gut mit den gemessenen Kurven übereinstimmt. Das gesamte Verhalten der Aktin-Filamente kann ohne freien Parameter durch die Theorie der Gauß'schen semiflexiblen Kette beschrieben werden.

⁵Nach [25] sind diese Moden für diese Steifigkeiten mit den Biegemoden zu identifizieren.

3.3 Messung der Rotationsdiffusion von simulierten Polymeren

Aufgrund der limitierten Photostabilität der fluoreszenz-markierten Aktin-Filamente wurden zusätzlich simulierte Polymere betrachtet. Diese haben den Vorteil, dass die Steifigkeit der Polymerkette frei einstellbar ist.

3.3.1 Simulationsdesign

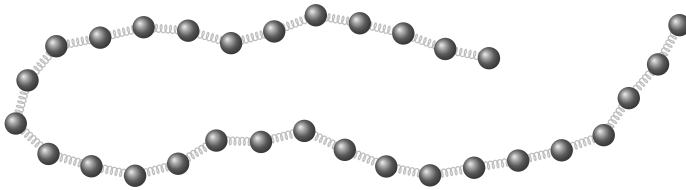


Abbildung 3.9 : Das simulierte Modell besteht aus $N = 30$ Kugeln, die durch $N - 1$ FENE-Federn verbunden sind. Der Gleichgewichtsabstand a der Kugeln wurde auf 1 in willkürlichen Einheiten festgelegt.

Polymere mit verschiedenen Steifigkeiten wurden *in silico*⁶ im Gleichgewicht beobachtet. Ein Polymer wurde mit einem Kugel-Feder-Modell durch $N = 30$ Kugeln an den Positionen $\mathbf{r}_n(t)$ modelliert [34] ($n \in [1; N]$), die durch $N - 1$ FENE-Federn⁷ gemäß [34] verbunden sind (vgl. Abb. 3.9). Der Gleichgewichts-Abstand a zwischen den Kugeln ist auf $a = 1$ (Einheit Länge) festgelegt, sodass sich die Konturlänge zu $L_c = N - 1$ ergibt. Zusätzlich wechselwirken die Kugeln durch ein rein repulsives Lennard-Jones Potential und die Biegesteifigkeit der Kette wird durch ein Biege-Potential U_{bend} berücksichtigt. Der Tangentenvektor $\mathbf{t}_i = \frac{1}{a}(\mathbf{r}_{i+1} - \mathbf{r}_i)$ des i -ten Segments befindet sich dabei mit dem benachbarten Tangentenvektor im einem Potential $U_{\text{bend}} = -\frac{\kappa}{4} \sum_{i=1}^{N-1} \left(\frac{\Delta t}{a} \right)^2 = \frac{\kappa}{2} \sum_{i=1}^{N-1} \mathbf{t}_i \cdot \mathbf{t}_{i+1} + \text{const}$, welches durch den Simulations-Parameter κ festgelegt wird. Die Reibung, die jede Kugel bei der Bewegung erfährt, wird durch den einheitlichen Reibungskoeffizienten $\zeta_{\text{bead}} = 1$ (Einheit Kraft/Geschwindigkeit) festgelegt. Hydrodynamische Wechselwirkungen wurden in der Simulation vernachlässigt. Während der Simulationsdauer T_t

⁶Die Simulation wurde durchgeführt von Martin Kröger (ETH Zürich)

⁷FENE: "Finite-Extensible-Nonlinear-Elastic"

wurde zu jedem Simulationsschritt im zeitlichen Abstand $dt = 0.05$ (in willkürlichen Einheiten) der End-zu-End-Vektor $\mathbf{R}_{ee}(t) = \mathbf{r}_{n=N}(t) - \mathbf{r}_{n=1}(t)$ berechnet und dessen Polarkoordinaten abgespeichert.

Zur Charakterisierung der Steifigkeit und zur einfacheren Vergleichbarkeit mit Aktin-Filamenten wurde die Persistenzlänge L_p mit Hilfe der Formel 2.4 berechnet. Da die Längeneinheiten in der Simulation willkürlich gewählt sind, wird das Verhältnis zwischen Kontur- und Persistenzlänge zu $L_c/L_p = 0.3...51$ berechnet. Ein Beispiel, wie sich die Konformationen mit diesem Verhältnis ändern, ist in Abbildung 3.10 dargestellt. Bei relativ steifen Polymeren ($L_c/L_p < 1$) sind stab-ähnliche Konformationen zu erkennen, während flexiblere Polymere ($L_c/L_p > 1$) mit zunehmender Flexibilität immer stärkere Krümmungen aufweisen.

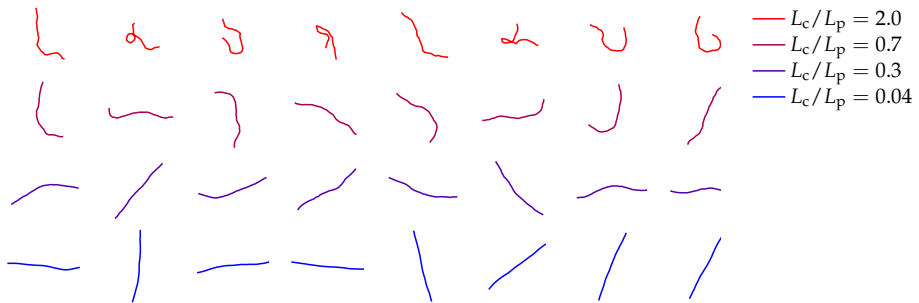


Abbildung 3.10 : Zur Veranschaulichung der Größe L_c/L_p wurden acht Konformationen mit konstantem zeitlichen Abstand von simulierten Polymeren in zwei Dimensionen mit unterschiedlicher Steifigkeit visualisiert. Für ein relativ steifes Polymer mit $L_c/L_p = 0.04$ sind stab-ähnliche Konformationen zu beobachten, während flexiblere Polymere stärkere Krümmungen aufweisen.

3.3.1.1 Rotationsrelaxationszeit im steifen Limit

Die Rotationsrelaxationszeit $\tau_{\text{rod}} = 1/2D_{\text{rod}}$ eines stabartigen Polymers der Länge L_c ist über den Rotationsdiffusionskoeffizienten D_{rod} definiert. Dieser lässt sich mit der Einstein-Relation $D_{\text{rod}} = \frac{k_B T}{\zeta_r}$ aus dem Rotations-Reibungskoeffizienten ζ_r berechnen.

Für das kontinuierliche Kugel-Modell eines stabartigen Polymers ist der Rotations-Reibungs-Koeffizient ζ_r in [9] angegeben. Das diskrete Modell der

simulierten Polymere mit N Kugeln am Ort r_n mit ($n = 1 \dots N$) weist jedoch wesentliche Unterschiede dazu auf, weshalb ζ_r für ein solches Modell berechnet wird. Dieser ergibt sich analog zu [9] als Vorfaktor der Winkelgeschwindigkeit ω im Ausdruck des durch Reibungskräfte F_n verursachten Drehmoments $M = \sum_{n=1}^N r_n \times F_n$.

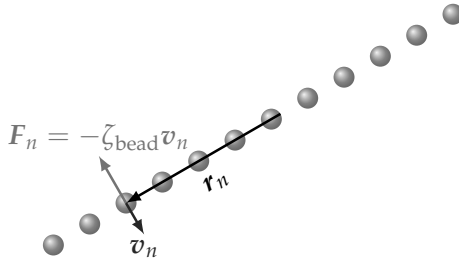


Abbildung 3.11 : Aus dem simulierten Polymer-Modell kann im steifen Limit der Rotations-Reibungs-Koeffizient ζ_r des gesamten Polymers berechnet werden. Auf jede Kugel an der Position r_n wirkt die Reibungskraft F_n abhängig von ihrer momentanen Geschwindigkeit v_n und ihrem Reibungskoeffizienten ζ_{bead} .

Hierbei ist die Reibungskraft der n -ten Kugel $F_n = -\zeta_{\text{bead}} v_n$ proportional zu ihrer Geschwindigkeit v_n , welche über die Winkelgeschwindigkeit $v_n = \omega \times r_n$ gegeben ist. Mit Hilfe der Summenformel für Quadrate und der Gauss'schen Summenformel erhält man den Ausdruck $M = -\zeta_{\text{bead}} \frac{N(N^2-1)a^2}{12} \omega$, woraus sich der Rotations-Reibungs-Koeffizient ζ_r identifizieren lässt. Mit $N = 30$ erhält man in guter Übereinstimmung ($\geq 99,8\%$)

$$\zeta_r = \zeta_{\text{bead}} \frac{N(N^2-1)a^2}{12} \approx \zeta_{\text{bead}} \frac{N^3 a^2}{12}. \quad (3.17)$$

Daraus folgt mit der Einstein-Relation $D_{\text{rod}} = \frac{k_B T}{\zeta_r}$ für die Rotationsrelaxationszeit

$$\tau_{\text{rod}} = \frac{1}{2D_{\text{rod}}} = \frac{\zeta_r}{2k_B T} = \frac{\zeta_{\text{bead}} N^3 a^2}{24k_B T} \quad (3.18)$$

3.3.2 Verhalten der mittleren quadratischen Rotationsverschiebung des End-zu-End-Vektors

Die mittlere quadratische Rotationsverschiebung der sechs simulierten Polymere wurde analog zu Abschnitt 3.2.2 ausgewertet und mit $(R_{ee}^{eq})^2$ normiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.12 dargestellt. Die Daten aller Polymere streben dabei mit unterschiedlichen Anfangssteigungen und unterschiedlichen Anfangswerten gegen ihren Langzeitwert $2(R_{ee}^{eq})^2$. Die Steigung der mittleren quadratischen Rotationsverschiebung ändert sich hierbei mit der Steifigkeit der Polymere und ist bei flexibleren (d.h. mit einem größeren L_c/L_p Verhältnis) Polymeren geringer. Außerdem wird bei flexibleren Polymeren der Abknickpunkt zum Langzeitwert früher erreicht. Um diese Eigenschaften besser zu verstehen, werden die Ergebnisse mit den gängigen Theorien für stabartige und flexible Polymere verglichen.

Im Vergleich mit dem Verhalten eines stabartigen Polymers (vgl. Gleichung 3.4 bzw. gestrichelte Linie in Abbildung 3.12) sind geringe Abweichungen auch für das steifste simulierte Polymer mit $L_c/L_p = 0.3$ zu erkennen. Das Verhalten eines stabartigen Polymers (schwarze gestrichelte Linie) stimmt hierbei mit keinem simulierten Polymer in allen Zeitbereichen überein. Vor allem für kurze Zeiten $t/\tau_{rod} < 10^{-2}$ ist für kein simuliertes Polymere eine lineare Zeitabhängigkeit zu beobachten. Während für längere Zeiten ($t/\tau_{rod} > 10^{-2}$) das Verhalten relativ steifer Polymere ($L_c/L_p < 1$) gut mit der Theorie stabartiger Polymere übereinstimmt, liegt für flexiblere Polymere ($L_c/L_p > 1$) zu keinem Zeitpunkt ein lineares Verhalten vor.

Eine weitere Abweichung zwischen der Theorie und den simulierten Polymeren zeigt sich im Zeitpunkt des Übergangs zum Langzeitwert von $2(R_{ee}^{eq})^2$. Dieser Übergang findet nach Gleichung 3.4 für stabartige Polymere bei τ_{rod} statt, was mit den Daten der zwei steifsten simulierten Polymere noch relativ gut übereinstimmt. Für die biegsameren Polymere ist dieser Übergang bei zum Teil wesentlich früheren Zeiten zu beobachten. Ein Polymer mit einem Verhältnis L_c/L_p von 2.3 weist bereits eine deutliche Abweichung von der Theorie stabartiger Polymere auf.

Zum Vergleich mit dem Verhalten flexibler Polymere wurde Formel 3.8 und 3.6 mit dem verwendeten Gleichgewichtsabstand der Kugeln in der Simulation

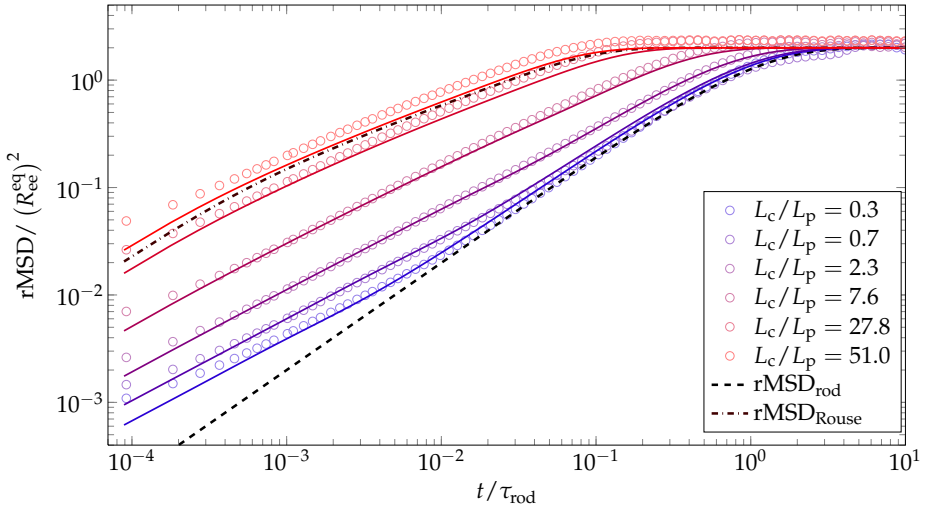


Abbildung 3.12 : Die mittlere quadratische Rotationsverschiebung von 6 simulierten Polymeren wurde auf $(R_{ee}^{eq})^2$ normiert und gegen die mit der Rotationsrelaxationszeit eines steifen Stabes τ_{rod} normierte Zeit t aufgetragen. Das theoretische Verhalten eines stabartigen Polymers (schwarze gestrichelte Linie) zeigt für steife Polymere L_c / L_p eine gute Übereinstimmung. Der Übergang zum konstanten Langzeit-Wert von 2 ist bei flexibleren Polymeren deutlich zu kürzeren Zeiten verschoben. Das rMSD einer Rouse-Kette nach Gleichung 3.8 (schwarze gestrichpunktete Linie) gibt hierbei das theoretische Verhalten eines komplett flexiblen Polymers an, wobei nur die ersten 31 Moden berücksichtigt wurden. Das theoretische Verhalten einer Rouse-Kette stimmt dabei gut mit der beiden flexibelsten simulierten Polymere überein. Das theoretisch berechnete Verhalten einer Gauß'schen semiflexiblen Kette nach Gleichung 3.9 (durchgezogene Linien) stimmt mit dem Verhalten der simulierten Polymere gut überein. Auch im Übergangsbereich zwischen fast steifen (blaue Kreise) Polymeren und relativ flexiblen Polymeren (rote Kreise) werden Steigungsverhalten und Knickpunkt-Position gut beschrieben.

$b = a = 1$ ausgewertet und in Abbildung 3.12 (gestrichpunktete Linie) mit den Simulationsergebnissen verglichen. Die Rouse-Kette vernachlässigt, wie auch die Simulation, hydrodynamische Wechselwirkungen und gibt mit Formel 3.8 das Verhalten des rMSD im flexiblen Limit an. Die mittlere quadratische Rotationsverschiebung der Rouse-Theorie stimmt hierbei gut mit dem Steigungs- und Abknickverhalten der beiden flexibelsten simulierten Polymere mit einem Verhältnis von $L_c/L_p = 27.8$ bzw. 51 überein. Durch die Berücksichtigung der höheren Rousemoden (vgl. Abb. 3.2) ist die Steigung der Rouse-Kette nicht-linear und folgt $t^{0.5}$, was für kurze Zeiten ($t \ll 0.1\tau_{\text{rod}}$) bei den rMSD der beiden biegsamsten simulierten Polymere beobachtet werden kann.

Die Rouse-Theorie kann das entgegengesetzte Extrem zum stabartigen Polymer – das flexible Polymer – gut beschreiben. Für andere Polymere wird diese Beschreibung jedoch schlechter je steifer das betrachtete Polymer ist.

Zum Vergleich mit der Gauß'schen semiflexiblen Kette wurde Gleichung 3.9 ausgewertet, wobei der Längen-Reibungs-Koeffizient $\gamma = \frac{\zeta_{\text{bead}}}{a} = 1$, die Dimensionalität $\hat{d} = 3$ und $k_B T = 1$ eingesetzt wurde. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.12) als durchgezogene farbige Linien dargestellt und zeigen für alle Zeit- und Steifigkeitsbereiche eine gute Übereinstimmung zwischen Simulation und Theorie. Vor allem für die Polymere im Übergangsbereich mit einem Verhältnis von L_c/L_p von 2.1, 7.2 und 26.8 reproduziert Gleichung 3.9 sowohl das Verhalten der Steigung wie auch die Position des Knickpunkts.

Kapitel 4

Einzelne Aktin Polymere im Scherfluss

Die Dynamik von einzelnen Polymeren unter dem Einfluss von Flussfeldern oder anderen Kräften ist ein Thema aktueller Forschung [26, 35, 36, 37], da die mikroskopischen Eigenschaften der Polymere den Ursprung der makroskopisch beobachteten Effekte darstellen. Diese makroskopischen Effekte wie Scherverdünnung, Scherverdickung etc. lassen sich zwar vermessen und auch beschreiben, jedoch ist ihr Auftreten material-spezifisch. Daher ist es ein Ziel aktueller Forschung die Dynamik und die Konformationseigenschaften von Polymeren unter Kraftereinwirkung beschreiben zu können, um direkt aus dem Polymeraufbau auf die makroskopischen Eigenschaften schließen zu können.

In einem einfachen Modell-System wurden bereits einzelne DNA-Moleküle in einem einfachen Scherfluss [2] senkrecht zur Ebene des Schergradienten beobachtet. Die Ausdehnung des Moleküls nahm dabei im Mittel stark zu – in Übereinstimmung mit theoretischen Untersuchungen [38]. Die DNS-Moleküle zeigten dabei aperiodische Fluktuationen der molekularen Ausdehnung, deren Zeitskala mit zunehmender Flusstärke (Weissenberg-Zahl) abnahm. Diese Fluktuationen äußerten sich durch ein alternierendes Auftreten von gestreckten und ungestreckten Konformationen. Jedoch konnte keine direkte Periodizität nachgewiesen werden, welche in Simulationen abschnittsweise beobachtet wurde [39]. Die Verfasser vermuteten damals bereits eine Purzelbaum-artige Bewegung (»Tumbling«- Bewegung), bei der sich die Anordnung beider Enden vertauscht, was jedoch nicht direkt beobachtet werden konnte. In späteren Veröffentlichungen [3, 1, 40] konnte dann erstmals die Polymer-Konformation in der Ebene des Schergradienten beobachtet werden. Hierbei konnten klare »Tumbling«-Bewegungen beobachtet werden, bei denen beide End-Segmente ihre Orientierung gegeneinander vertauschten. Die Autoren zeigten, dass diese Bewegung periodisch auftritt, die Dauer einer Periode jedoch nicht eng ver-

teilt ist. Die Abhängigkeit der Tumblingfrequenz von der Weissenbergzahl Wi konnte auf $\propto Wi^{0.62}$ bestimmt werden.

In weiteren Untersuchungen [41] konnten die Verteilungen wichtiger Kenngrößen von DNA-Molekülen im Scherfluss wie Tumblingzeiten oder räumliche Orientierungen genauer bestimmt werden. Damit konnte erstmals gezeigt werden, dass diese Verteilungen nicht Gauß-verteilt sind. Dieses »Intermittenz-Phänomen«¹ war in theoretischen Betrachtungen [42, 43] vorausgesagt worden. Auch konnte eine qualitative Übereinstimmung der Orientierungswinkelverteilung mit Simulationen mit dem FENE-Hantel-Modell² [44] gezeigt werden.

Solch einfache Modelle vernachlässigen bzw. vereinfachen die komplexen mechanischen Eigenschaften der Moleküle sehr stark. Daher wurde in zwei theoretischen Arbeiten [45, 46] versucht, die komplexe Mechanik der Moleküle durch ein komplexeres Kettenmodell besser zu modellieren. Das Modell einer Gauß'schen semiflexiblen Kette modelliert das Polymer als eine Kugelkette, dessen Kettenglieder gaußverteilte Abstände besitzen. Dieses Modell berücksichtigt die Biegesteifigkeit der Moleküle und konnte eine gute qualitative Übereinstimmung zwischen der Orientierungswinkelverteilung und den Tumblingzeiten mit den Ergebnissen aus [41] erzielen. Als wesentliches Ergebnis sagte diese Arbeit eine Skalierung der Tumbling-Zeit von $\tau_T \propto Wi^{-2/3}$ voraus, womit es im Einklang zu allen publizierten Ergebnissen steht. Eine andere Arbeit [47] konnte ein ähnliches Verhalten für stabartige Moleküle zeigen, wobei die endliche Biegesteifigkeit in einer Störungstheorie berücksichtigt wurde.

Tiefere Einblicke in die Dynamik flexibler DNA-Moleküle sind - aufgrund der endlichen Auflösungsgrenze - nur schwer mit optischen Mikroskopen zu erreichen. So ist die Persistenzlänge von DNA-Molekülen mit 50 nm wesentlich kleiner als die optische Auflösungsgrenze von Standardmikroskopen von ~ 250 nm, wodurch ein Polymerteil andere Polymerteile überdecken kann. Die Informationen über lokale Konformationsdetails der verschiedenen Polymerteile sind daher nicht mehr rekonstruierbar.

Eine Möglichkeit dieser Herausforderung zu begegnen ist es, steifere Polymere zu betrachten, da die Verteilung der möglichen Konformationen aufgrund hoher Biegeenergien stärker begrenzt ist. Somit lassen sich mehr Konformationsdetails wie zum Beispiel die lokale Krümmung und Orientierung beobachten. Mangels experimenteller Beobachtungen von steiferen Polymeren im Scherfluss

¹Die Intermittenz beschreibt die Eigenschaft eines Systems, dass das reguläre Verhalten durch kurze Phasen chaotischen Verhaltens gestört wird.

²FENE-Hantel-Modell: engl. *Finite-Extensible-Nonlinear-Elastic-dumbbell model*. Dieses »Hantel«-Modell beschreibt zwei Kugeln, welche an den Enden einer Feder befestigt sind. Die Feder besitzt einen endlichen Gleichgewichtsabstand und ist nur begrenzt dehnbar.

ist das Verhalten steifer oder semiflexibler Polymere jedoch weitgehend unbekannt. So konnte zwar in [48] vermutet werden, dass Aktin-Filamente im Scherfluss eine Tumbling-Bewegung ausführen, jedoch war die Dynamik des kompletten Zyklus durch die kurze Beobachtungszeit nicht zugänglich. Um diese Lücke zu schließen, wird daher in dieser Arbeit das Verhalten und die Dynamik steiferer und semiflexibler Aktin-Filamente untersucht.

4.1 Fließverhalten von Aktin-Filamenten

Eine Lösung von Aktin-Filamenten wird beim Durchfluss durch einen Mikrofluidik-Kanal beobachtet. Die Kombination des Mikrofluidik-Kanals mit einem motorisierten Mikroskop (vgl. Abb. 4.1) ermöglicht hierbei die Beobachtung eines individuellen Aktin-Filaments im Scherfluss über einen längeren Zeitraum. Somit kann die Wirkung des Flussfeldes der Lösung im Mikrofluidik-Kanal visuell beobachtet und anschließend quantifiziert werden.

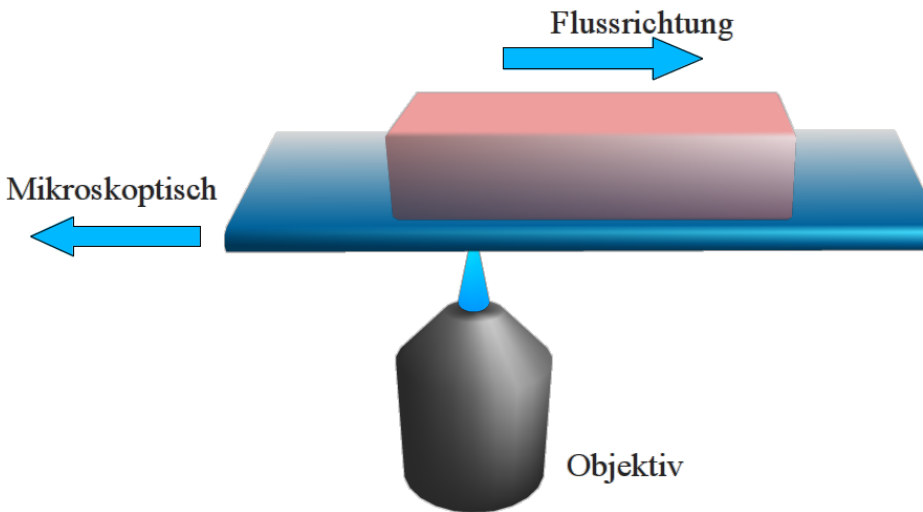


Abbildung 4.1 : Eine Lösung von Aktin-Filamenten wurde beim Durchfluss durch einen Mikrofluidik-Kanal beobachtet, wobei die Bewegung der Filamente in Flussrichtung durch eine entgegengesetzte Bewegung des Mikroskoptisches manuell ausgeglichen wurde. So konnte ein Filament über einen ausgedehnten Zeitraum im Bildausschnitt der angeschlossenen Kamera gehalten werden.

Aus den erfassten Koordinaten der Konformationen der Aktin-Filamente und der aktuellen Position des Mikroskoptisches kann die Trajektorie des Filamentschwerpunkts im Koordinatensystem des Mikroskoptisches berechnet werden. Mit der ebenfalls erfassten Position der Kanalwand kann die Richtung des Kanalfusses genau bestimmt werden. Mit diesen Informationen kann die Bewegung des Filaments in ein »Kanal-zentriertes«-Koordinatensystem transformiert werden, in dem die Kanalmitte in x -Richtung bei $y = 0$ verläuft. In diesem Koordinatensystem ist die y -Koordinate des Filament-Schwerpunkts $\mathbf{r}_{\text{com}}(t) = (x_{\text{com}}(t), y_{\text{com}}(t))$ durch die Position der Kanalwände bei $-w/2$ bzw. $w/2$ in ihrem Wertebereich beschränkt.

Die Bewegung der umgebenden Flüssigkeit kann in diesem Koordinatensystem nach Abschnitt 2.2.5 in guter Näherung durch eine Parabel $v_{\text{fluid}}(y) = \left(v_{\text{max}} \left(1 - \frac{y^2}{(w/2)^2} \right) \right) \cdot \hat{e}_x$ beschrieben werden. Aufgrund der kleinen Reynoldszahlen ($Re \ll 1$) des Systems kann eine durch Reibung dominierte Bewegung angenommen werden. Daher werden Trägheitskräfte vernachlässigt ($\ddot{\mathbf{r}}_{\text{com}}(t) = 0$) und es wird angenommen, dass die Bewegung des Polymerschwerpunkts der Bewegung der Flüssigkeit am Ort des Schwerpunkts ($\dot{\mathbf{r}}_{\text{com}}(t) = v_{\text{fluid}}(y_{\text{com}}(t))$) folgt. In Abbildung 4.2(a) und 4.2(b) ist als Beispiel der gemessene zeitliche Verlauf der Schwerpunktskoordinaten eines 16 μm langen Aktin-Filamentes dargestellt.

Durch diese Koordinatentransformation ist die diffusive Bewegung des Polymers im Verlauf der y -Koordinate erkennbar, während in x -Richtung die Bewegung von der Flussbewegung des Mediums dominiert ist. Im Allgemeinen kann die diffusive Bewegung in y -Richtung von Randeffekten überlagert werden, wie sie in [4, 48] beobachtet und in [49, 50] beschrieben wurden. Zudem können durch die Anisotropie der Polymerkonformation schwache »rheophoretische« Kräfte resultieren [51, 52]. Diese Effekte führen in y -Richtung nahe der Kanalwand bzw. nahe der Kanalmitte zu einer gerichteten Bewegung. Um eine Migration in y -Richtung zu vermeiden, wurden die Aktin-Filamente anfangs so selektiert, dass sie sich nicht zu nah an der Kanalwand bzw. Kanalmitte befanden. Diese Migrationseigenschaften wurden in dieser Arbeit nicht weiter untersucht, da *kein* Zusammenhang zwischen der Migration und der Filament-Konformation beobachtet werden konnte.

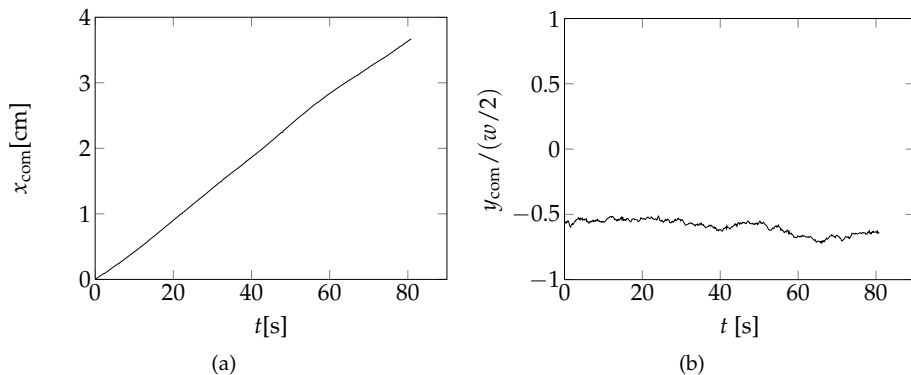


Abbildung 4.2 : Schwerpunktbeziehung eines $16 \mu\text{m}$ langen Aktin-Filaments im Kanal-zentriertem Koordinatensystem. Der Zeitverlauf der x -Koordinate (in Flussrichtung) in (a) zeigt das Passieren des Kanals über eine Länge von 3.6 cm mit einer konstanten Geschwindigkeit, welche durch den Fluss des Mediums vorgegeben wird. Die Bewegung quer zur Flussrichtung in y -Richtung in (b) zeigt dagegen ein fluktuierende Bewegung um die Kanalposition den Wert $y_{\text{com}} = -0.6w/2$. Die Kanalbreite betrug hierbei $w = 32 \mu\text{m}$.

4.2 Konformationseigenschaften von Aktin-Filamenten im Scherfluss

Mit dem verwendeten experimentellen Aufbau wurde erstmals das Verhalten eines Aktin-Filaments im Scherfluss über längere Zeit beobachtet. Die Hauptresultate der folgende Abschnitte wurden bereits in [53] veröffentlicht und entstanden in Zusammenarbeit mit Martin Kröger (ETH Zürich) und Bernhard Wunderlich (TU München) [54]. Durch die Subtraktion der Schwerpunktposition $r_{\text{com}}(t)$ von den N Koordinaten der gesamten Filamentkonformation $r(n, t)$ ($n \in [0; N]$) wurde das Verhalten der Filamentkonformation im Schwerpunktsystem beobachtet. Im Schwerpunktsystem ist die relative Geschwindigkeit der umgebenden Flüssigkeit zum Polymerschwerpunkt näherungsweise durch einen einfachen Scherfluss gegeben (vgl. Abschnitt 2.2.6). Unter diesen Flussbedingungen können die Reibungskräfte auf unterschiedliche Polymersegmente variieren, wodurch sich Änderungen in den Konformationseigenschaften (im Vergleich zum Gleichgewichtszustand) ergeben.

In Abbildung 4.3 sind Ausschnitte aus dem gesamten zeitlichen Verlauf der

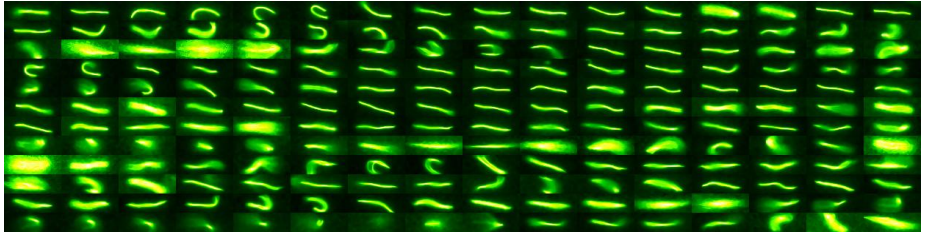


Abbildung 4.3 : Zeitliche Abfolge der Konformationen eines Aktin-Filaments im Scherfluss (Scherrate $\dot{\gamma} = 41/s$ von links nach rechts bzw. zeilenweise von oben nach unten. Der zeitliche Abstand zwischen den Einzelbildern beträgt 0.45 s). Es zeigt sich eine alternierende Abfolge zwischen stark gebogenen und gestreckten Konformationen.

Konformationen eines $8\ \mu\text{m}$ langen Aktin-Filaments im Scherfluss dargestellt. Im Vergleich zum Gleichgewicht (vgl. 3.7(a)) kann man das Auftreten gebogener Konformationen erkennen, welche auf die im Scherfluss auftretenden Reibungskräfte $F_R(s, t)$ zurückzuführen sind. Im zeitlichen Verlauf von Abbildung 4.3 wechseln sich Sequenzen mit stark gekrümmten Konformationen mit Sequenzen mit gestreckten Konformationen ab. Die Abfolge dieser Sequenzen ist nicht streng periodisch, jedoch lässt sich eine charakteristische Abfolge von Konformationen identifizieren (gestreckt–einbiegend–»U«-förmig–ausbiegend–gestreckt). Diese Konformationen weisen in ihrer Ausdehnung gewisse Ähnlichkeiten mit in [2, 1] beobachteten Konformationen von abwechselnd gestreckten und verknäulten DNA-Molekülen auf. Im Unterschied zu DNA-Molekülen lassen sich bei Aktin-Filamenten aufgrund ihrer längeren Persistenzlänge wesentlich genauere Informationen über die Dynamik der Polymersegmente erhalten.

Die charakteristischen Abfolgen von Konformationen von Aktin-Filamenten im Scherfluss sind in Abbildung 4.4 dargestellt. In dieser Abfolge wird zunächst ein Teil des Filaments aus einer anfänglich gestreckten Konformation so stark gebogen, dass die Kontur des Filaments die Form eines »U«s annimmt. Anschließend folgt eine komplette Umorientierung der gesamten Filamentkonformation und eine erneute Streckung der Konformation. Die Darstellung der überlagerten Konformationen in Abbildung 4.9 zeigt, wie diese U-Form während eines Tumbleings komplett durch das Filament propagiert.

In einer groben Einteilung können zwei unterschiedliche Phasen identifiziert werden: (i) eine Phase der Ausrichtung der Orientierung des Filaments zur Flussrichtung, welche von einer Rotationsdiffusion dominiert wird, und (ii)

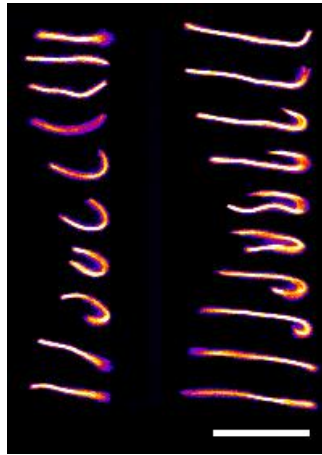


Abbildung 4.4 : Charakteristische Abfolge der Konformationen eines 8 μm langen (links) und 16 μm langen (rechts) Aktin-Filaments im Scherfluss (Scherrate $\dot{\gamma} \sim 6 \text{ s}^{-1}$). Die anfangs gestreckten Konformationen (oben) werden durch den Scherfluss auf »U«-förmige Konformationen deformiert. Dabei passieren die beiden Enden einander und eine komplette Umorientierung der Filamentkonformation findet statt. Am Ende (unten) befinden sich die Filamente wieder in einer gestreckten Konformation jedoch mit einer gegensätzlichen Orientierung zur Anfangsorientierung. Maßstab 10 μm

eine deterministische Phase, die vom advektiven³ Transport des Filaments bestimmt wird und zu einem klaren Tumbling der Endsegmente führt. Im weiteren werden diese Phasen als *diffusive Phase* bzw. *advektive Phase* bezeichnet.

Der Einfluss der Filamentlänge wird durch den Vergleich der Konformationen verschieden langer Filamente ersichtlich. Für sehr kurze Filamente ($< 5 \mu\text{m}$) werden keine stark gebogenen Konformationen beobachtet. Wie in Abbildung 4.5(a) gezeigt, führen diese Filamente fast nur eine reine Rotation aus, ohne dass eine signifikante Biegung im Kamerabild auflösbar wäre. Da bei diesen Filamenten im Gleichgewicht Biegefluktuationen kaum mehr beobachtbar sind, werden diese Filamente als annähernd steif oder stabartig bezeichnet.

Vor allem bei längeren Aktin-Filamenten lassen sich zusätzlich zu den beschriebenen charakteristischen Konformationsverläufen auch noch komplexere Verläufe beobachten. So ist in Abbildung 4.5(b) beispielhaft eine Abfolge von

³Advektion beschreibt den kontinuierlichen Transport durch die Bewegung des Trägerflüssigkeit.

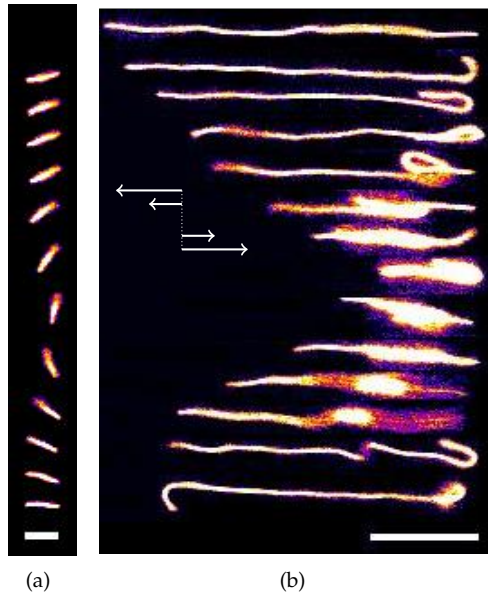


Abbildung 4.5 : (a) Montage der Tumbling-Bewegung eines 3 µm langen Aktin-Filaments. Im Gegensatz zu längeren Aktin-Filamenten tritt hierbei keinerlei signifikante Biegung des Filaments auf. (Maßstab 3 µm) (b) Montage der Tumbling-Bewegung eines 34 µm langen Aktin-Filaments. Die Konformationen solch langer Filamente während eines Tumbings sind wesentlich komplexer und lassen sich nicht durch einfache Formen wie z.B. ein »U« beschreiben. (Maßstab 10 µm)

Konformationen dargestellt, wie sie bei einem 34 µm-langen Filament beobachtet wurde. Aufgrund seiner Länge $L_c \sim 2L_p$ können selbst im Gleichgewicht an beiden Filamentenden unabhängig voneinander starke gebogene Teilkonformationen entstehen, ohne dass diese sich wesentlich beeinflussen. Durch diese Freiheit im Konformationsverhalten kann für längere Aktin-Filamente ein einfacher Ablauf wie in Abbildung 4.4 nur noch selten beobachtet werden und ist daher nicht mehr charakteristisch (vgl. Abschnitt 4.3.4).

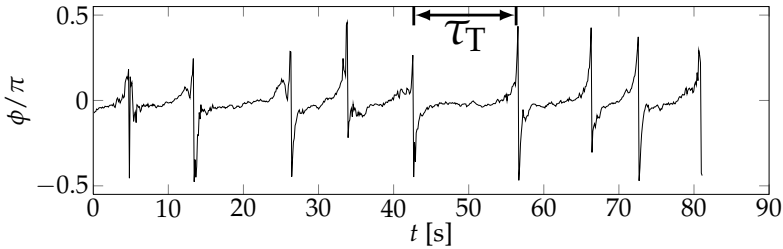


Abbildung 4.6: Der zeitliche Verlauf des Orientierungswinkels zeigt »Sprünge«, wenn die End-Segmente des Aktin-Filaments einander passieren. Die Sprungpositionen koinzidieren dabei mit den Tälern des End-zu-End-Abstandsverlaufs (vgl. Abb. 4.8). Diese gut definierten Sprungpositionen ermöglichen eine eindeutige Bestimmung der Tumblingzeit τ_T .

4.3 Dynamik von Aktin-Filamenten im Scherfluss

Aus den N erfassten Konformationskoordinaten $r(n, t)$ mit ($n = 1..N$) lassen sich charakteristische Größen der Konformation berechnen und graphisch darstellen. Bestimmt werden speziell der Winkel ϕ des End-zu-End-Vektors zur Flussrichtung $\phi = \arccos\left(\frac{R_{ee} \cdot \hat{e}_x}{R_{ee} v_{fluid}}\right)$ und der End-zu-End-Abstand $R_{ee}(t) = |r(n = 1, t) - r(n = N, t)|$. Der Zeitverlauf für ein $16 \mu\text{m}$ langes Aktin-Filament ist in Abbildung 4.6 bzw. 4.8 dargestellt. Im Weiteren wird der Winkel ϕ auch als Orientierungswinkel bezeichnet. Die Berechnung von ϕ durch trigonometrische Umkehrfunktionen ist durch deren eingeschränkten Wertebereich auf kleine Werte begrenzt, wodurch Sprünge im Winkel bzw. Peaks im Winkelbetrag beim Durchgang des Winkels durch $\pi/2$ bzw. $-\pi/2$ (siehe Abb.4.6) entstehen. Durch eine Addition bzw. Subtraktion von π zum errechneten Winkel ϕ beim Auftreten dieser artifiziiellen Sprünge kann der Winkel »sinngemäß« fortlaufend und stetig akkumuliert werden. Somit ergibt sich, wie in Abbildung 4.7 dargestellt, ein Treppenstufen-artiger Verlauf des Orientierungswinkels.

Der zeitliche Abstand zwischen zwei aufeinanderfolgenden Umorientierungen des Aktin-Filaments wird als Tumblingzeit τ_T bezeichnet. Diese Größe gibt ein Maß für die Dynamik der Tumblingbewegung an und kann durch die gut definierten Zeitpunkte der Sprungpositionen (Abb. 4.6) bestimmt werden.

In den Zeitverläufen des End-zu-End-Abstands und des Orientierungswinkels lassen sich die stochastischen Eigenschaften der diffusiven Phase deutlich an der variablen Länge der Plateaus zwischen den Tumblingevents erkennen.

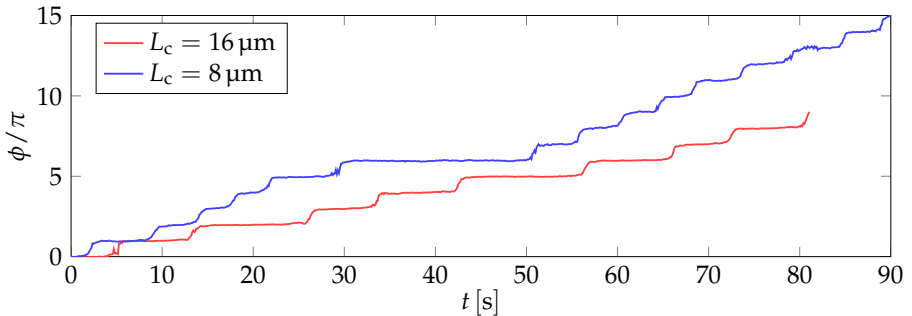


Abbildung 4.7 : Der »Treppenstufen«-artige Verlauf des Orientierungswinkels ϕ zeigt die fortlaufende aber nicht-konstante Rotationsbewegung der Aktin-Filamente im Scherfluss. Während die Stufenlänge durch die diffusive Phase stark variieren kann, ist der Stufenanstieg in seiner Form sehr regulär.

Die advective Phase dagegen ist durch die regulären Verläufe der Täler im End-zu-End-Abstand (vgl. Abb. 4.8) bzw. Stufenverläufe im Orientierungswinkel charakterisiert. Da der zeitliche Verlauf der Observablen in dieser advectiven Phase kaum variiert, ist die Dauer der diffusiven Phase entscheidend für die gesamte Tumblingzeit.

Die Bedeutung der diffusiven Phase lässt sich durch folgende Betrachtung erklären: Bei voller Ausrichtung der Filamentkonformation sind die auftretenden Reibungskräfte senkrecht zur Filamentachse sehr gering, da nur sehr geringe Unterschiede in der Flussgeschwindigkeit zwischen Filamentschwerpunkt und

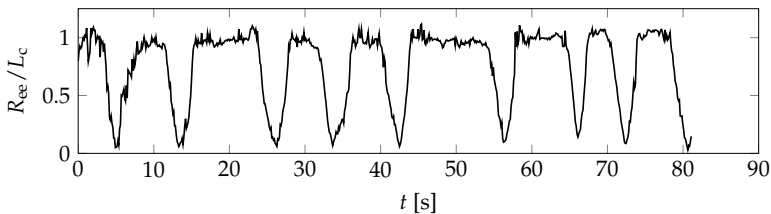


Abbildung 4.8 : Der zeitliche Verlauf des End-zu-End-Abstands R_{ee} weist reguläre »Täler« auf, an die Plateaus mit unterschiedlicher Länge anschließen. Diese Plateaus kennzeichnen Phasen mit fast vollständig gestreckten Konformationen ($R_{ee} \sim L_c$). Die Täler kennzeichnen die Passage beider End-Segmente des Aktin-Filaments.

Filamentoberfläche auftreten. Durch das beinahe verschwindende Drehmoment ergibt sich eine quasi-metastabile Lage, in der die Rotationsdynamik vor allem durch thermische Fluktuationen dominiert wird. Fluktuationen in Richtung der Rotationskomponente des Scherflusses bewegen bzw. rotieren die Filamentkonformation, was zu einer leicht gekippten Lage des Filaments führt. Durch die nun auftretenden Reibungskräfte wird das Filament weiter gekippt und anschließend gebogen. Im Zeitverlauf des Orientierungswinkelbetrags, siehe Abbildung 4.6 (b), ist dies deutlich durch den Anstieg nach Berührung der Schwelle $\phi = 0$ zu erkennen. Fluktuationen gegen die Richtung der Rotationskomponente des Scherflusses sind dagegen unterdrückt, da das resultierende Drehmoment ihnen entgegenwirkt und wieder zu einer Ausrichtung zur Flussrichtung und Streckung des Filaments führt.

Während der diffusiven Phase sind keine größeren Biegefluktuationen zu beobachten, wodurch die Dynamik der Filamentorientierung durch die Rotationsdiffusion eines steifen Stabes gleicher Länge genähert werden kann. Im Gegensatz dazu ist die Konformation während der advektiven Phase durch die Biegung des Filaments dominiert, und somit wird die Orientierungsdynamik durch die Dynamik der Biegung bestimmt. Um diese Dynamik zu verstehen, wird daher im folgenden die Dynamik beider Phasen separat von einander betrachtet und modelliert.

4.3.1 Stadion-Modell

Die Konformationen vieler Aktin-Filamente in der advektiven Phase eines Tumbling-Ereignisses lassen sich so übereinander legen, dass eine fast fortlaufende »Bahn« entsteht, welcher die Filamentsegmente folgen (siehe Abb. 4.9). Aus dieser Beobachtung lässt sich ein Modell motivieren, das die Bewegung der Filamentsegmente auf einer festen Bahnkurve beschreibt. Diese Bahnkurve ist geformt wie ein Teil der Laufbahn eines Leichtathletikstadions, weshalb das Modell im Folgenden auch als »Stadion-Modell« bezeichnet wird. In der zugehörigen englisch-sprachigen Publikation [53] wurde der im Straßenverkehr geläufigere Begriff des »U-Turns« benutzt.

In diesem Stadion-Modell ist das Polymer mit seiner Konformation auf eine Stadion-ähnliche Bahn (siehe Abb. 4.10) in der x - y -Ebene beschränkt und die Flusseigenschaften werden durch einen einfachen Scherfluss beschrieben. Die Polymerkonformation zum Zeitpunkt t wird durch die kontinuierliche Raumkurve $r(s, t) = (x(s, t), y(s, t))$ beschrieben, mit dem kontinuierlichen Konturparameter $s \in [0; L_c]$. Die lokale Krümmung $\kappa(s)$ des Polymers an der Stelle s ergibt sich aus dem lokalen Winkel $\alpha(s)$ zwischen dem Tangentenvektor und

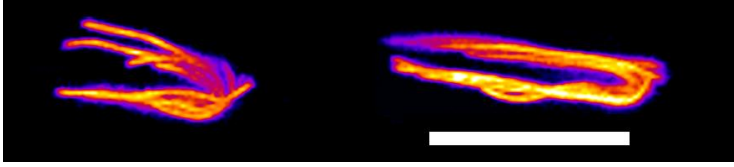


Abbildung 4.9 : Die Konformationen aus Abbildung 4.4 wurden so übereinandergelegt, dass sich eine annähernd durchgängige Bahn ergibt. Die Filamentsegmente formen dadurch eine U-förmige Bahnkurve, welche der Laufbahn eines Leichtathletikstadions ähnelt. Maßstab 10 μm .

der Flussrichtung via $\kappa(s) = \frac{d}{ds}\alpha(s)$. Der Winkel zwischen dem End-zu-End-Vektor \mathbf{R}_{ee} des Polymers und der Flussrichtung $\hat{\mathbf{e}}_x$ wird als $\phi = \arccos\left(\frac{\mathbf{R}_{\text{ee}}}{R_{\text{ee}}} \cdot \hat{\mathbf{e}}_x\right)$ bezeichnet. Desweiteren wird angenommen, dass die Bewegung des Filamentschwerpunkts $\mathbf{r}_{\text{com}} = \int_0^{L_c} \mathbf{r}(s,t) ds$ komplett der Flussgeschwindigkeit des umgebenden Flüssigkeit am Ort des Schwerpunkts folgt $\dot{\mathbf{r}}_{\text{com}} = \mathbf{v}_{\text{fluid}}$ (unabhängig von der aktuellen Konformation des Filaments).

In der advektiven Phase sind die thermischen Fluktuationen vernachlässigbar, da die Bewegung des Polymers durch die Scherkräfte dominiert wird. Diese deterministische Bewegung ist durch die lokale Kraftbalance der angreifenden Reibungskräfte $F_R(s,t)$ und der Biegekräfte $F_B(s,t)$ vorgegeben. Die lokale Reibungskraft auf ein Filamentsegment ist direkt proportional zur relativen Fließgeschwindigkeit $v_{\text{rel}}(s,t)$ des Segments zu der umgebenden Flüssigkeit.

$$F_R(s,t) \propto v_{\text{rel}}(s,t) \quad \text{mit} \quad v_{\text{rel}}(s,t) = v_{\text{fluid}}(s,t) - v(s,t) \quad (4.1)$$

Hierbei bezeichnet $v(s,t)$ die lokale Fließgeschwindigkeit des Filamentsegments und $v_{\text{fluid}}(s,t)$ die Fließgeschwindigkeit der umgebenden Flüssigkeit an der Stelle des Filamentsegments. Im Schwerpunktsystem ist die Geschwindigkeit $v_{\text{fluid}}(s,t)$ durch den einfachen Scherfluss vorgegeben und kann über die Scherrate $\dot{\gamma} = \frac{d}{dy}|v_{\text{fluid}}(r_{\text{com}})|$ und den Abstand $y_{\text{com}}(s,t)$ des Filamentsegments zum Schwerpunkt berechnet werden.

$$v_{\text{fluid}}(s,t) = \dot{\gamma} \cdot y_{\text{com}}(s,t) \quad (4.2)$$

Die Konformation eines kleinen Filamentsegments ds kann lokal durch einen Stab der Länge L approximiert werden [6], wodurch sich die Reibungskräfte

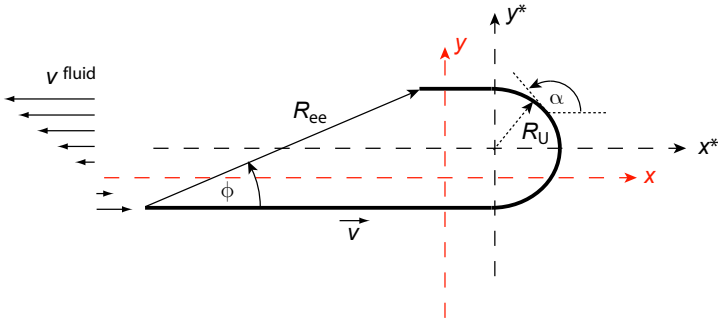


Abbildung 4.10 : Darstellung der Bahnkurve im Stadion-Modell. Die Filamentsegmente mit dem lokalen Tangentialwinkel α durchlaufen eine U-förmige Bahnkurve mit der Bahngeschwindigkeit v . Die Bahnkurve besteht dabei aus zwei parallelen Teilstücken und einem gebogenen Teilstück, welches eine konstante Krümmung mit dem Krümmungsradius R_U aufweist. Der Verlauf des End-zu-End-Vektors R_{ee} und des Orientierungswinkels ϕ wird durch die Bahnkurve und die Konturlänge des Filaments festgelegt. Das Koordinatensystem des Schwerpunkts (rot) und das Koordinatensystem des Stadions (x^*, y^*) werden für die detaillierte Berechnung benötigt. (siehe Anhang 2).

berechnen lassen. Aufgrund der Anisotropie des Stab-Reibungskoeffizienten c wird die lokale Reibungskraft zerlegt in die parallelen (\parallel) und senkrechten (\perp) Anteile relativ zur lokalen Tangente $t(s, t)$ der Kontur,

$$F_R(s, t) = c_{\parallel} \mathbf{v}_{\text{rel}}^{\parallel}(s, t) + c_{\perp} \mathbf{v}_{\text{rel}}^{\perp}(s, t) \quad (4.3)$$

wobei hier $\mathbf{v}_{\text{rel}}(s, t)$ ebenfalls in parallele und senkrechte Komponenten zerlegt wurde. Die Filamentenden werden als frei angenommen, weshalb die Krümmung dort verschwindet $\kappa(0) = \kappa(L_c) = 0$.

In einer typischen Tumbling-Bewegung wird ein ausgezeichnete Punkt s_b maximaler Biegung $\frac{d}{ds} \kappa(s_b) = 0$ in der Konformation beobachtet (siehe Abb. 4.9), welcher als Fixpunkt benutzt wird. Damit kann das Filament als gebogener Stab betrachtet werden, welcher an der Stelle s_b zum Zeitpunkt t fixiert ist. Die Biegung dieses Stabes kann physikalisch als Biegung zweier Stäbe (Vorderteil $s \in [0, s_b]$ und Hinterteil $s \in [s_b, L_c]$) behandelt werden, welche bei s_b mit dem Winkel $\alpha(s_b)$ an einer Wand fixiert sind. Der lokale Krümmungsradius $R(s) \equiv \kappa^{-1}(s)$ ist dann durch das Biegemoment $M(s)$ gegeben, welches durch die Reibungskräfte erzeugt wird: $R^{-1}(s) = -M(s)/k_B T L_p$. Im Experiment wird keine messbare Änderung der Konturlänge beobachtet, weshalb das Aktin-

Filament als undeformbar angenommen wird. Aufgrund der niedrigen Reynoldszahlen werden jegliche Trägheitskräfte vernachlässigt $|\ddot{r}_{\text{com}}| \approx 0$.

Die Bahngeschwindigkeit v kann dann aus der Bedingung berechnet werden, dass das Filament im Schwerpunktsystem nicht beschleunigt wird und somit das Integral der tangentialen Komponenten der Relativgeschwindigkeit verschwindet (siehe Anhang 2). Im Regime stark gebogener Zustände kann man aus der experimentellen Beobachtung motivieren, dass die Konformation und die Dynamik des Filaments durch eine Stadion-förmige Bahn approximiert werden kann (vgl. Abb. 4.9). Es wird angenommen, dass die Filamentkonformation dieser Stadion-förmigen Bahn mit einem konstanten Kurvenradius R_U mit einer Bahngeschwindigkeit $v(t)$ folgt. Der Radius R_U wird dabei über das Biegemoment $M_b = M(s_b)$ am Punkt der höchsten Krümmung s_b abgeschätzt und berechnet nach [6] über

$$\frac{1}{R_U} = -\frac{M_b}{k_B T L_p}. \quad (4.4)$$

Für lange Filamente ($\pi R_U / L_c \ll 1$) lässt sich mit dem Ausdruck für die Bahngeschwindigkeit das Biegemoment $M_b = -\frac{\pi}{4} c_{\parallel} \dot{\gamma} R_U^3$ (Herleitung siehe Anhang Abschnitt 2) berechnen und aus Gleichung 4.4 und folgt für den Radius R_U :

$$R_U = \left(\frac{4 k_B T L_p}{\pi c_{\parallel} \dot{\gamma}} \right)^{\frac{1}{4}} \quad (4.5)$$

Damit erhält man in guter Näherung eine konstante Bahngeschwindigkeit:

$$v = \dot{\gamma} R_U. \quad (4.6)$$

Aus diesem Ergebnis ergibt sich die Orientierungsdynamik des End-zu-End-Vektors zu

$$\dot{\phi} = \dot{\gamma} \sin^2 \phi, \quad (4.7)$$

was genau mit der Dynamik nicht-brownscher und unendlich dünner steifer Stäbe übereinstimmt (vgl. [27]). Bemerkenswerterweise ergibt sich somit für das Regime stark gebogener Konformationen eine Orientierungsdynamik des Orientierungsvektors, die komplett mit der Orientierungsdynamik nicht-brownscher steifer Stäbe übereinstimmt. Da die Bereiche mit gestreckten Konformationen ohnehin durch ein Stab-Modell beschrieben werden können, kann die komplette Orientierungsdynamik des End-zu-End-Vektors vollständig auf die Dynamik eines »teleskopartigen« Stabes zurückgeführt werden.

4.3.2 Modell eines teleskopartigen Stabes

Die Orientierungsdynamik steifer Stäbe im Scherfluss ohne thermische Fluktuationen wird nach [55] durch den sogenannten »Jeffery-Orbit« $\dot{\phi} = \dot{\gamma} (\sin^2 \phi + \kappa_J^2 \cos^2 \phi)$ (vgl. [27]) beschrieben. Dabei bezeichnet κ das Verhältnis von Durchmesser zu Länge, was im Falle von Aktin-Filamenten $\kappa_J \sim 10^{-3}$ vernachlässigbar ist. Im Falle von steifen Stäben im Scherfluss mit thermischen Fluktuationen ist zwischen einem diffusions-dominierten und einem advektions-dominierten Bereich zu unterscheiden. Beide Bereiche, wie in Abbildung 4.11 skizziert, werden durch den festen kritischen Winkel ϕ_c [56] getrennt.

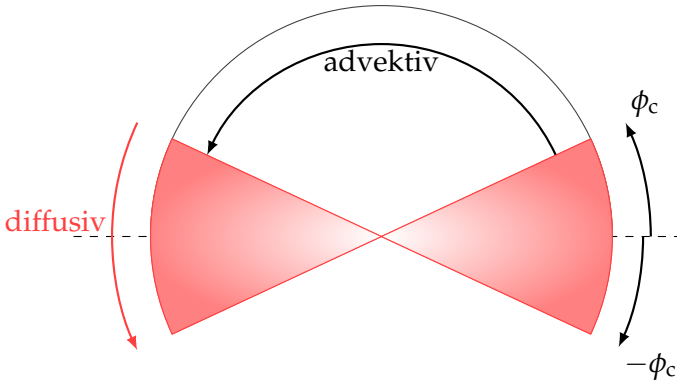


Abbildung 4.11 : Die advektive und diffusive Phase kann durch die Winkel $\pm\phi_c$ bzw. $\pi \pm \phi_c$ getrennt werden. Der Bereich zwischen ϕ_c und $\pi - \phi_c$ wird rein advektiv unter Vernachlässigung thermischer Fluktuationen betrachtet. Im Bereich zwischen $-\phi_c$ und ϕ_c kann die Bewegung als eine Diffusionsbewegung mit Drift betrachtet werden.

Die Advektions-Zeit τ_{adv} , welche das Filament in der Phase der Advektionsbewegung verbringt, kann durch die Integration von Gleichung 4.7 über das Intervall $[\phi_c, \pi - \phi_c]$ berechnet werden:

$$\tau_{adv} = \int_{\phi_c}^{\pi - \phi_c} \frac{d\phi}{\dot{\phi}(\phi)} = \frac{1}{\dot{\gamma}} \int_{\phi_c}^{\pi - \phi_c} \frac{d\phi}{\sin^2 \phi} = -\frac{1}{\dot{\gamma}} \left[\frac{1}{\tan \phi} \right]_{\phi_c}^{\pi - \phi_c} = \frac{2}{\dot{\gamma} \tan \phi_c} \quad (4.8)$$

wobei der kritische Winkel nach [56]

$$\phi_c = \left(\frac{D_{\text{rod}}}{\dot{\gamma}} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (4.9)$$

mit dem Rotationsdiffusionskoeffizienten D_{rod} (vgl. Abschnitt 3.3.1.1) definiert ist. Damit lässt sich ϕ_c als Funktion von R_U zu

$$\phi_c^3 = \frac{3\pi R_U^4}{2L_c^3 L_p}. \quad (4.10)$$

ausdrücken. Experimentell konnte $R_U \approx 1 \mu\text{m}$ beobachtet werden, wodurch ϕ_c sehr kleine Werte annimmt ($\phi_c \ll 1$). In Gleichung 4.8 kann somit die Kleinwinkelnäherung verwendet werden, womit sich für die Advektionszeit

$$\tau_{\text{adv}} \approx \frac{2}{\dot{\gamma}\phi_c} = \frac{2}{D_{\text{rod}}^{\frac{1}{3}} \dot{\gamma}^{\frac{2}{3}}} \quad (4.11)$$

ergibt.

Die diffusive Phase wird durch die Diffusionszeit τ_{diff} charakterisiert. Die mittlere Passierzeit ⁴ τ_{diff} dieses Bereichs kann ausgehend von der Langevin-Gleichung

$$\dot{\phi} = \dot{\gamma} \sin^2 \phi + \sqrt{2D_{\text{rod}} \eta_B} \quad (4.12)$$

analytisch durch Standardmethoden berechnet werden. Hierbei bezeichnet $\eta_B(t)$ weißes Rauschen und erfüllt die folgenden Bedingungen (vgl. [57]):

$$\begin{aligned} \langle \eta_B(t) \rangle &= 0, \\ \langle \eta_B(t) \eta_B(t') \rangle &= \delta(t - t') \end{aligned} \quad (4.13)$$

Der aus den Advektionskräften resultierende Driftterm $\dot{\gamma} \sin^2 \phi$ kann mit der Kleinwinkelnäherung ($\phi_c \ll 1$) durch die analytisch einfacher zu handhabenden Ausdruck $\dot{\gamma} \phi^2$ ersetzt werden. Daher kann das Potential $U(\phi) = -\dot{\gamma} \phi^3 / 3$ eingeführt werden, womit sich der deterministische Term zu $\dot{\gamma} \sin^2 \phi \approx \dot{\gamma} \phi^2 = -U'(\phi)$ ergibt. Nun betrachtet man den Winkel ϕ im Potential $U(\phi)$, welcher das Potentialtal bei $\phi = \phi_c$ verlässt (absorbierender Rand) und bei $-\phi_c$ reflektiert

⁴engl. *mean first passage time*

wird (bei einer angenommenen positiven Scherrate $\dot{\gamma}$). Mit den Methoden nach [58] ergibt sich die mittlere Diffusionszeit τ_{diff} zu

$$\tau_{\text{diff}} \approx \frac{5\phi_c^2}{3D_{\text{rod}}} = \frac{5}{3D_{\text{rod}}^{1/3}\dot{\gamma}^{2/3}} \quad (4.14)$$

Die gesamte mittlere Tumblingzeit τ_T ergibt sich aus den Ergebnissen für τ_{diff} und τ_{adv} zu

$$\tau_T = \tau_{\text{adv}} + \tau_{\text{diff}} = \frac{11}{3} \frac{1}{D_{\text{rod}}^{1/3}\dot{\gamma}^{2/3}}. \quad (4.15)$$

In früheren Arbeiten über flexible Polymere wird üblicherweise die gesamte Tumblingzeit in Abhängigkeit der Weissenberg Zahl Wi angegeben. Als dimensionslose Größe für Polymere im Scherfluss ist die Weissenberg Zahl definiert als das Produkt der Relaxationszeit des Polymers τ_r und der Scherrate $\dot{\gamma}$ und ist somit ein Maß für die Stärke des Flusses in Relation zu einer charakteristischen Zeitskala des Polymers. Im Fall eines stabartigen Polymers ist die Relaxationszeit $\tau_r = \tau_{\text{rod}}$ nach [9] über $\tau_{\text{rod}} = \frac{1}{2D_{\text{rod}}}$ gegeben, wodurch sich für die Weissenberg Zahl der Ausdruck $Wi = \dot{\gamma}/2D_{\text{rod}}$ ergibt. Somit erhält man die Formel

$$\frac{\tau_T}{\tau_{\text{rod}}} = 4.62 Wi^{-\frac{2}{3}} \quad (4.16)$$

Bestimmung der Knicklänge Nach der Theorie der Knickens von Balken (vgl. [6]) existiert eine kritische Kraft, ab der eine Knickung des Filaments stattfindet. Im Falle stabartiger Filamente steigen die durch Reibung bedingten Kompressionskräfte entlang des Filaments mit steigender Konturlänge L_c an. Daher lässt sich eine minimale Knicklänge L_b berechnen, ab der ein Knicken stattfindet und stark gebogene Konformationen zu erwarten sind. Die lokale Reibungskraft $d\mathbf{F}_r^{\text{frict}}$ eines Filaments in zylindrischen Koordinaten ($r \in [-L_c/2; L_c/2]$) wird durch

$$d\mathbf{F}_r^{\text{frict}} = -c_{\parallel} \dot{\gamma} \sin \phi \cos \phi r dr \quad (4.17)$$

festgelegt. Die Kompressionskraft $F_{\text{comp}}(r)$ berechnet sich zu

$$F_{\text{comp}}(r) = \int_r^{L_c/2} d\mathbf{F}_r^{\text{frict}} = \frac{1}{8} c_{\parallel} L_c^2 \dot{\gamma} \sin \phi \cos \phi (1 - x^2) \quad (4.18)$$

wobei $x = 2r/L_c$ und $x \in [-1; 1]$. Die Euler-Kraft F_{buckle} für den komprimierten Teil des Filaments mit Länge $L = xL_c$ ist nach [6] gegeben durch:

$$F_{\text{buckle}} = \pi^2 \frac{k_B T L_p}{x^2 L_c^2} \quad (4.19)$$

Mit $F_{\text{buckle}} = F_{\text{comp}}$ ergibt sich die maximale Kompressions-Kraft bei $\phi = \pi/4$ und die minimale Knickkraft bei $x = \sqrt{1/2}$. Deshalb ergibt sich als Wert der Knicklänge L_b

$$L_b = \left(64\pi^2 \frac{k_B T L_p}{c_{\parallel} \dot{\gamma}} \right)^{1/4} = 2\pi^{3/4} R_U. \quad (4.20)$$

4.3.3 Vergleich mit den Messungen

Die Knicklänge L_b konnte mit Hilfe des U-turn-Radius R_U aus 4.20 je nach Scherrate zu 4.2 – 6.1 μm bestimmt werden. In den Experimenten konnte beobachtet werden, dass Filamente mit einer Konturlänge, welche größer oder gleich der Knicklänge waren, während des Tumbings stark gebogene Konformationen aufwiesen (siehe Abbildung 4.12). Filamente mit kleinerer Konturlänge zeigten jedoch keinerlei stark gebogene Konformationen mehr (vgl. Abbildung 4.5(a)).

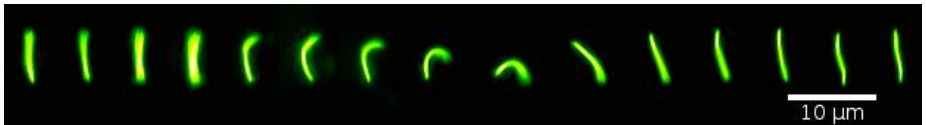


Abbildung 4.12: Verlauf einer Tumbling-Bewegung (von links nach rechts) eines 6 μm langen Aktin-Filamentes. Während des Tumbings sind deutlich gebogene Konformationen erkennbar, was bei kürzeren Filamenten, wie Abb. 4.5(a) gezeigt, nicht mehr der Fall ist.

Der U-turn-Radius der die Konformationen der Filamente beschreibt, kann aus den experimentellen Daten aus der Ausdehnung des Filaments senkrecht zur Flussrichtung bestimmt werden. Zu dem Zeitpunkt, an dem sich beide End-Segmente passieren ($\phi \approx \pi/2$), wurde die gemittelte Ausdehnung in y -Richtung im kanalzentrierten Koordinatensystem gemessen und mit den theoretisch erwarteten Wert aus Gleichung 4.5 $R_U = \left(\frac{4}{\pi} \frac{k_B T L_p}{c_{\parallel} \dot{\gamma}} \right)^{1/4}$ verglichen. Die gemessen

Werte stimmen sehr gut mit den je nach Scherrate theoretisch erwarteten U-turn-Radius von $0.9 - 1.3 \mu\text{m}$ überein (siehe Abbildung 4.13). Hierbei wurden nur die Tumbling-Ereignisse ausgewertet, deren Konformationen annähernd als U-förmig beschrieben werden konnte.

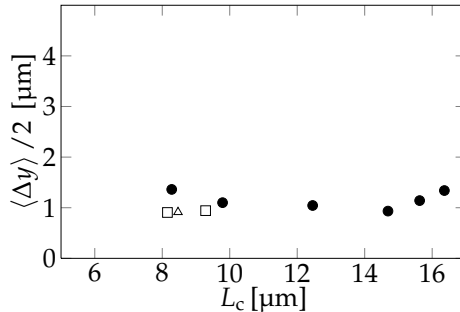


Abbildung 4.13 : Die Auswertung der mittleren Ausdehnungen $\langle \Delta y \rangle$ der Filamentkonformationen senkrecht zur Flussrichtung zum Zeitpunkt der Passage der Endsegmente stimmt sehr gut mit dem theoretisch errechneten Wert von $0.9 - 1.3 \mu\text{m}$ überein. (● $\dot{\gamma} \sim 6 \text{s}^{-1}$, □ $\dot{\gamma} \sim 12 \text{s}^{-1}$, △ $\dot{\gamma} \sim 19 \text{s}^{-1}$)

Die Dynamik des Orientierungswinkels $\phi(t)$ konnte aus den aufgezeichneten Konformationsdaten der Aktin-Filamente bestimmt werden. Dazu wurde aus dem berechneten Zeitverlauf des Orientierungswinkels $\phi(t)$ die mittlere Winkelgeschwindigkeit $\langle \dot{\phi}(\phi) \rangle$ über 0.1π breiten Winkelintervallen ermittelt und mit der theoretischen Winkelgeschwindigkeit nicht-brownscher steifer Stäbe im Scherfluss verglichen.

Wie man in Abbildung 4.14 sehen kann, ist die gemittelte Winkelgeschwindigkeit der Aktin-Filamente in guter Übereinstimmung mit der analytischen Formel für den Jeffery-Orbit $\dot{\phi} = \dot{\gamma} \sin^2 \phi$, welcher die Winkelgeschwindigkeit nicht-thermischer steifer Stäbe im Scherfluss beschreibt. Dies bestätigt das Ergebnis des Stadion-Modells, nachdem die konstante Bahngeschwindigkeit der Filamentsegmente auf der Stadionbahn in erster Näherung zu einer Winkelgeschwindigkeit führt, die durch den Jeffery-Orbit beschrieben wird.

Die Tumblingzeiten der Filamente wurden gemittelt und sind in Abbildung 4.15 dargestellt. Zur Reskalierung der Daten wurde der Rotationsdiffusionskoeffizient D_r der Aktin-Filamente verwendet. Über die Relation $D_r = 1/2\tau_r$

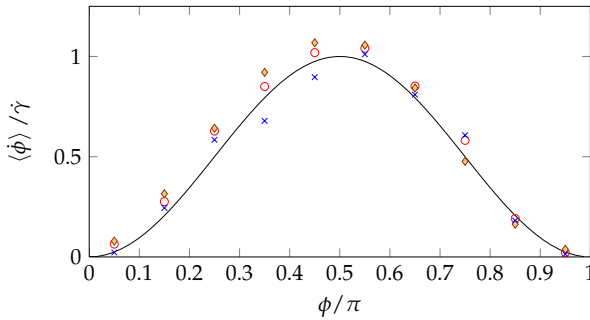


Abbildung 4.14 : Die mittlere Winkelgeschwindigkeit für verschieden lange Filamente ($\diamond 3 \mu\text{m}$, $\times 8 \mu\text{m}$, $\circ 16 \mu\text{m}$) bei verschiedenen Winkeln ϕ folgt mit großer Übereinstimmung der Kurve, die nicht-thermische steife Stäbe beschreiben (durchgezogene schwarze Linie).

wurde D_r über die Rotationsrelaxationszeit τ_r berechnet, welche immer durch die längste Relaxationszeit der zugehörigen Eigenmoden dominiert ist (vgl. [9]). Da üblicherweise diese (längste) Relaxationszeit⁵ eingesetzt wird, kann man die Definition des Rotationsdiffusionskoeffizienten für steife Stäbe D_{rod} auf flexible Polymere durch die Relation

$$\tau_r = \frac{1}{2D_r} \quad (4.21)$$

mit dem verallgemeinerten Rotationsdiffusionskoeffizienten D_r erweitern.

Für die simulierten Polymere kann der verallgemeinerte Rotationsdiffusionskoeffizient D_r hierbei auch innerhalb eines Stab-Modells betrachtet werden, wobei die Rotationsdiffusion des Polymers unter Vernachlässigung hydrodynamischer Effekte in erster Näherung durch einen Stab mit der mittleren effektiven Ausdehnung $\langle R^2 \rangle$ beschrieben werden kann. Für reale Polymere ist diese Näherung nur eingeschränkt gültig ($L_c < 10L_p$). Die effektive mittlere Ausdehnung $\langle R^2 \rangle$ des Polymers wird dabei durch eine quasi-»eingefrorene« mittlere Konformation angenommen, welche durch den quadratischen Gleichgewichtsabstand $(R_{ee}^{\text{eq}})^2$ und dem mittleren quadratischen Gyrationradius

⁵In [9] wird die längste Relaxationszeit als »Rotations-Relaxationszeit« für flexible Polymere bezeichnet.

R_{gyr}^2 (vgl. Gleichung 2.6) wie folgt festgelegt wird:

$$\langle R^2 \rangle = \frac{1}{2} \left((R_{\text{ee}}^{\text{eq}})^2 + 12R_{\text{gyr}}^2 \right) \quad (4.22)$$

Für steife bzw. flexible Polymere ergibt sich mit

$$R_{\text{gyr}}^2 = \frac{L_c^2}{12} \quad \text{für} \quad L_c \ll L_p \quad \text{bzw.} \quad (4.23)$$

$$R_{\text{gyr}}^2 = \frac{(R_{\text{ee}}^{\text{eq}})^2}{6} \quad \text{für} \quad L_c \gg L_p \quad (4.24)$$

eine effektive Ausdehnung von

$$\langle R^2 \rangle = (R_{\text{ee}}^{\text{eq}})^2 = L_c^2 \quad \text{für} \quad L_c \ll L_p \quad \text{bzw.} \quad (4.25)$$

$$\langle R^2 \rangle = \frac{3}{2} (R_{\text{ee}}^{\text{eq}})^2 \quad \text{für} \quad L_c \gg L_p. \quad (4.26)$$

Mit dieser effektiven Ausdehnung ergibt sich analog zu Abschnitt 3.3.1.1 der Diffusionskoeffizient D_r zu

$$D_r = \frac{12k_B T}{\gamma L_c \langle R^2 \rangle} = D_{\text{rod}} \cdot \frac{L_c^2}{\langle R^2 \rangle}. \quad (4.27)$$

und entsprechend die Rotationsrelaxationszeit $\tau_r = \tau_{\text{rod}} \cdot \frac{\langle R^2 \rangle}{L_c^2}$. Ein Vergleich mit den Relaxationszeiten, welche sich aus dem Modell der Gauß'schen semiflexiblen Kette ergeben ist in Abbildung 3.3 dargestellt. Es zeigt sich hierbei eine gute quantitative Übereinstimmung für relativ steife Polymere ($L_c < 10L_p$) bis hin zu flexibleren Polymere der Länge $L_c > 10L_p$. Unter Vernachlässigung hydrodynamischer Wechselwirkungen kann diese Näherung auch flexible Polymere mit einem geringen Offset gut beschreiben. Dieser Offset korrigiert die Vernachlässigung der Relaxation entlang der Kette bei flexiblen Polymeren, welcher bei der Berechnung der Relaxationszeiten eingeführt wurde.

Mit der Weissenberg-Zahl $Wi = \dot{\gamma}\tau_r = \dot{\gamma}/(2D_r)$ ergibt sich nach Gleichung 4.15 der Ausdruck für die Tumblingzeit

$$\frac{\tau_T}{\tau_r} = \frac{11 \times 2^{\frac{1}{3}}}{3} \left(\frac{D_r}{D_{\text{rod}}} \right)^{\frac{1}{3}} Wi^{-\frac{2}{3}}. \quad (4.28)$$

Im Vergleich mit der 4.28 zeigt sich eine gute Übereinstimmung für kurze Aktin-Filamente bzw. simulierte Polymere aus NEBD-Simulationen⁶. Für längere Filamente ($L_c > L_p$) werden kürzere Tumblingzeiten beobachtet, als sie sich aus Stadion-Modell theoretisch berechnen lassen. Diese Abweichung wird in Abschnitt 4.3.4 diskutiert.

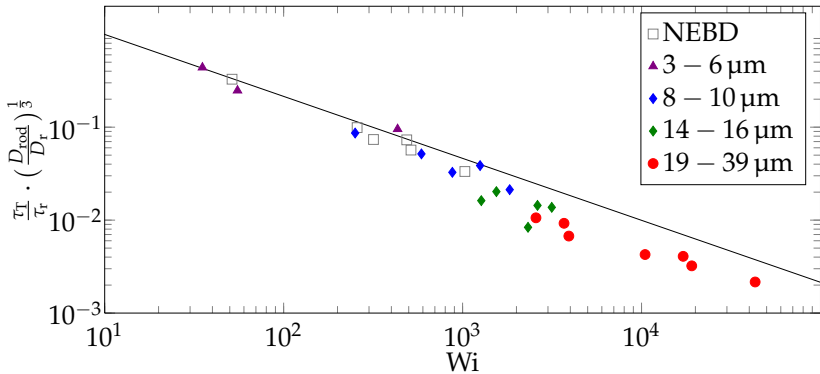


Abbildung 4.15 : Die normierten Tumblingzeiten von Aktin-Filamenten (Symbole) verschiedener Konturlängen (siehe Legende) sind im Vergleich mit der aus dem Stadion-Modell hergeleiteten Formel (durchgezogene Linie) 4.28 dargestellt. Für Aktin-Filamente mit moderaten Flussstärken bis $Wi < 1000$ ist eine gute Übereinstimmung erkennbar. Dies gilt ebenfalls für die Tumblingzeiten simulierter Polymere (offene Symbole) aus Nicht-Gleichgewichts-Brownsche-Dynamik-Simulationen (NEBD). Für längere Polymere mit höheren Weissenberg Zahlen weicht die Tumblingzeit von der Theorie leicht ab.

Die Teleskop-artige Dynamik des End-zu-End-Vektors, das Verlängern und Verkürzen des End-zu-End-Abstands, kann aus dem Stadion-Modell hergeleitet werden [53]. So ergibt sich aus dem Modell die Funktion $\mathbf{R}_{ee}(\phi)$ im Bereich stark gebogener Konformationen. Die jeweilige Form des Filaments und der Verlauf des End-zu-End-Abstands variiert auf der Stadionbahn mit der Konturlänge des Filaments. Aus der U-förmigen Bahn ergibt sich ein Minimum des End-zu-End-Abstands von $2R_U$ und ein Maximum von L_c als obere Grenze. Für Filamente im Bereich $|\dot{\gamma}t| \leq (L_c/(2R_U) - \pi/2)$ ergibt sich aus der Stadion-

⁶NEBD engl. *Non-equilibrium-Brownian-dynamics* Nichtgleichgewichts-Brownsche-Dynamik-Simulation durchgeführt von Martin Kröger (ETH Zürich)

Bahn mit Gleichung 4.5

$$R_{ee}(t) = 2R_U \sqrt{1 + (\dot{\gamma}t)^2} \quad (4.29)$$

In Abbildung 4.16 ist der Vergleich zwischen gemittelten experimentell beobachteten Zeitverläufen des End-zu-End-Abstandes und der theoretischen Vorhersage (Gleichung 4.29) dargestellt. In der Tat zeigt sich eine qualitative Übereinstimmung im Bereich kleiner End-zu-End-Abstände, wo die Dynamik der Aktin-Filamente durch die Advektion dominiert wird. Aufgrund des zunehmend diffusiven Charakters der Bewegung in den anderen Bereichen treten starke Abweichungen auf, welche nicht durch das Stadion-Modell beschrieben werden können.

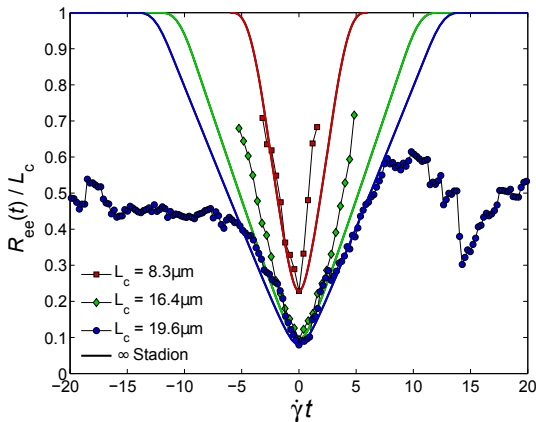


Abbildung 4.16 : Vergleich der experimentellen Daten für den gemittelten Verlauf des normierten End-zu-End-Abstands mit dem Verlauf (durchgezogene Linien), welcher sich numerisch aus dem Stadion-Modell ergibt.

4.3.4 Verhalten bei flexibleren Filamenten

Mit zunehmender Konturlänge wird das Erscheinungsbild eines Tumbings komplexer. So treten ab einer Länge zwischen 10 – 16 μm vermehrt Tumblingbewegungen auf, bei denen an beiden Enden stark gebogene Konformationen beobachtbar sind. Diese Beobachtung deckt sich mit der Voraussage des WLC-Modells, welches für Filamente, die länger als die Persistenzlänge sind, eine nahezu verschwindende Korrelation der Orientierung der Filament-Endsegmente

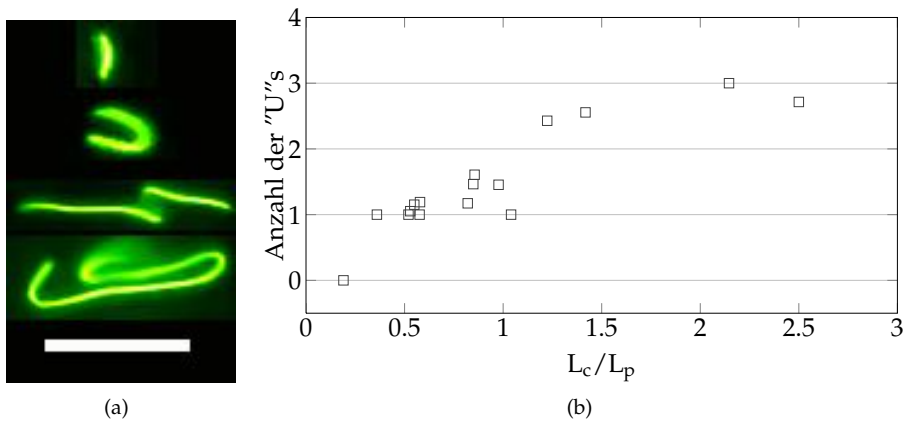


Abbildung 4.17 : (a) Vergleich der Konformationen verschieden langer Aktin-Filamente während einer Tumblingbewegung. Mit zunehmender Konturlänge steigt die Anzahl der U-förmigen Teilkonformationen. (Maßstab 10 μm) (b) Die durchschnittliche Anzahl an U-förmigen Biegungen, die während einer Tumblingbewegung in der Filamentkonformation beobachtet wird, ist für kurze Filamente fast diskret zwischen 0 und 1 verteilt. Sobald die Filamente eine Konturlänge L_c im Bereich der Persistenzlänge L_p besitzen, steigt diese an. Für längere Filamente ergeben sich multiple U-förmige Biegungen während einer Tumblingbewegung.

im thermischen Gleichgewicht beschreibt (vgl. Gleichung 2.3). Durch diese mit der Länge ansteigenden Freiheiten in der Konformation ist es möglich, dass die gesamte Konformation des Filaments mehr als eine U-förmige Biegung aufweist.

Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 4.17(a) einzelne Konformationen von verschiedenen langen Filamenten während einer Tumblingbewegung gezeigt, wobei diese eine unterschiedliche Anzahl von U-förmigen Teilkonformationen aufweisen. Eine quantitative Auswertung zeigt, dass die durchschnittliche Anzahl an U-förmigen Teilkonformationen pro Tumblingbewegung mit der Konturlänge ansteigt (vgl. Abb. 4.17(b)). Während für sehr kurze Filamente, mit einer Konturlänge L_c von höchstens der Knicklänge L_b , keine U-förmige Konformation zu beobachten ist, weisen Filamente im Bereich $L_b < L_c < L_p$ durchschnittlich eine U-förmige Teilkonformation auf. Für längere Filamente $L_c > L_p$ werden durchschnittlich mehrere U-förmige Teilkonformationen beobachtet.

Interessanterweise werden bei Filamenten mit $L_c \sim L_p$ gleichzeitig das Auftreten mehrerer »U«s pro Tumbling wie auch eine Abweichung der experimentell gemessenen Tumblingzeiten von der Theoriekurve in Abbildung 4.15 beobachtet. Im Experiment ergeben sich bei diesen Konturlängen sehr komplexe und teils chaotische Konformationsverläufe, welche sich im Zeitverlauf des End-zu-End-Abstands durch irreguläre »Täler« widerspiegeln (vgl. Abb. 4.18). Während dieser irregulären Verläufe kann der End-zu-End-Vektor mehrmals eine senkrechte Stellung zur Flussrichtung durchlaufen, wodurch sich kurze Tumbling-Zeiten ergeben.

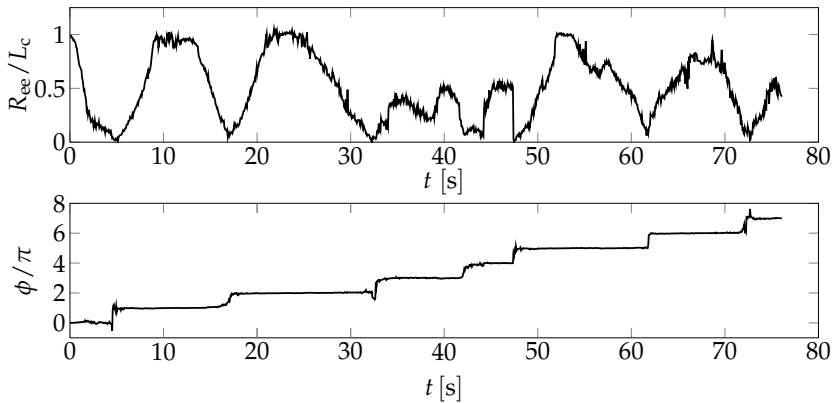


Abbildung 4.18 : Zeitverlauf des normierten End-zu-End-Abstands R_{ee} eines $34 \mu\text{m}$ langen Aktinfilaments. Im Vergleich zu kürzeren Filamenten erkennt man irreguläre Verläufe der »Täler«. Im hinteren Teil des Verlaufs erkennt man, dass das Filament nicht in eine voll gestreckte Konformation überging, bevor es eine neuerlichen Tumblingbewegung begann. Ein solches Verhalten ist für kürzere Filamente nicht zu beobachten.

Dieses Verhalten wird im letzten Tumbling-Ereignis, des in Abbildung 4.18 dargestellten Verlaufs eines $34 \mu\text{m}$ langen Aktin-Filaments, deutlich. Die geringeren Biegeenergien bei steigendem Abstand, ermöglichen bei längeren Konturlängen eine quasi-unabhängige Reorientierung der Filamentenden in der »diffusiven Phase«. Somit kann ein Filamentende nach einer Phase der Ausrichtung zur Flussrichtung bereits wieder eine stark gebogene Teilkonformation annehmen, während das andere Filamentende sich noch ausrichtet bzw. die vorhergehende stark gebogene Konformation verlässt. Durch diesen Mechanismus ist im letzten Tumbling-Ereignis von Abbildung 4.18 kein ausgedehntes Plateau

mehr zu erkennen. Dieses Verhalten verkürzt die gesamte Tumblingzeit, was die Abweichung der gemessenen Tumblingzeit von der Theoriekurve erklärt⁷.

Im flexiblen Limit ($L_c \gg L_p$) sollten die vorher beschriebenen Effekte noch stärker auftreten, wodurch flexible Polymere in der diffusiven Phase im Mittel nicht mehr komplett gestreckt vorliegen. Dies wurde in der Tat so in Experimenten mit DNA-Molekülen [3] und auch in NEBD-Simulationen beobachtet. Somit trifft die Annahme des Stadion-Modells, dass sich das Polymer wie ein Stab gleicher Konturlänge L_c durch die diffusive Phase bewegt, nicht mehr zu. Auch ist die Annahme des Stadion-Modells über das Biegeverhalten nicht mehr anwendbar, da hier entropische Effekte die Bewegung des Filaments oder Polymers dominieren. So kann man den U-Turn-Radius, der sich für ein $22 \mu\text{m}$ langes DNA-Molekül unter den Bedingungen wie in [3] ergibt, mit 340 nm abschätzen⁸, was weit oberhalb der Persistenzlänge von DNA ($L_p = 50 \text{ nm}$) liegt. Die theoretische Vorhersage zu den Tumblingzeiten aus dem Stadion-Modell lässt sich jedoch auf flexible Polymere erweitern, und wird im Folgenden erläutert.

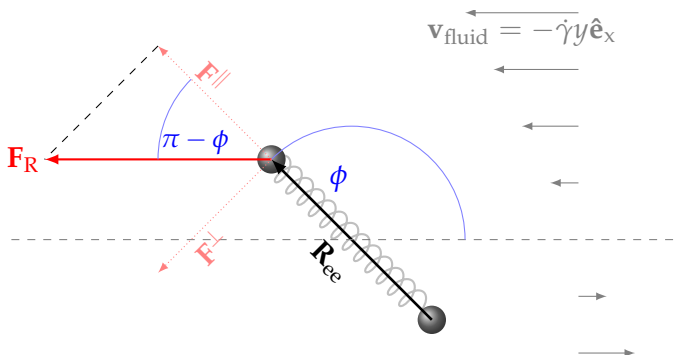


Abbildung 4.19 : Modell einer FENE-Hantel im einfachen Scherfluss. Die FENE-Hantel besteht aus zwei Kugeln, welche durch eine Feder verbunden sind. Die Feder ist nur begrenzt dehnbar. Die durch den einfachen Scherfluss auf die Kugel wirkende Reibungskraft F_R , kann in zwei Komponenten F_{\parallel} , F_{\perp} aufgespalten werden. Während F_{\parallel} eine Veränderung des Ausdehnungsverhaltens des End-zu-End-Vektors R_{ee} bewirkt, führt F_{\perp} zu einer Änderung des Orientierungswinkels ϕ .

⁷Diese Abweichung wird in [59] für hohe Weissenbergzahlen vorausgesagt, jedoch konnten im Experiment aufgrund der endlichen Stabilität der Aktin-Filamente keine wesentlich höheren Flusstärken angewendet werden.

⁸in einer wässrigen Lösung ohne Berücksichtigung hydrodynamischer Effekte

Für die advektive Phase kann man das Polymer als eine entropische Feder betrachten, welche durch ein FENE-Hantel-Modell beschrieben werden kann (vgl. [44]). Dies ist schematisch in Abbildung 4.19 dargestellt. Im Scherfluss lassen sich die auftretenden Reibungskräfte F_R in eine radiale Komponente F^{\parallel} und eine dazu senkrechte Komponente F^{\perp} aufspalten. Die radiale Komponente F^{\parallel} befindet sich dabei im Kräftegleichgewicht mit der Kraft einer entropischen Feder, was zu einem winkelabhängigen End-zu-End-Abstand führt. Die dazu senkrechte Komponente F^{\perp} bewirkt eine Rotationsbewegung. Die entropische Feder führt hierbei aber nur zu Kräften in radialer Richtung, wodurch die Rotationsbewegung der FENE-Hantel von ihrer Ausdehnung entkoppelt ist. Somit folgt die FENE-Hantel in der advektiven Phase weiter dem Jeffery-Orbit (vgl. Formel 4.7) und damit der Vorhersage aus dem Stadionmodell (vgl. Inset in Abb. 4.20).

In der diffusiven Phase kann die Bewegung des Polymers beschrieben werden, indem ein effektiver Diffusionskoeffizient D_{diff} angenommen wird. Unter der Voraussetzung, dass das Polymer in der diffusiven Phase nicht wesentlich relaxiert und sich nicht aufknäult ($\tau_r \ll \tau_{\text{diff}}$), kann seine Bewegung als stabähnlich – also durch Rotationsdiffusion dominiert – angenommen werden. Dadurch lässt sich ein effektiver Diffusionskoeffizient D_{diff} definieren,

$$D_{\text{diff}} = \frac{12k_B T}{\gamma L_c L_{\text{diff}}^2}, \quad (4.30)$$

der den Diffusionskoeffizient eines steifen Stabes mit einer gewissen Länge L_{diff} beschreibt. Hierbei wurde der isotrope Reibungskoeffizient γ des gesamten Polymers unter Vernachlässigung hydrodynamischer Wechselwirkungen verwendet. Aus dieser Überlegung kann man die Formel 4.28 analog Gleichung 4.27 auf flexible Polymere erweitern indem man die »Stablänge« durch die Länge L_{diff} korrigiert:

$$\frac{\tau_T}{\tau_r} = \frac{11 \times 2^{\frac{1}{3}}}{3} \left(\frac{L_{\text{diff}}^2}{\langle R^2 \rangle} \right)^{\frac{1}{3}} \text{Wi}^{-\frac{2}{3}} \quad (4.31)$$

Formel 4.31 konnte mit Hilfe von Simulationsdaten aus NEBD-Simulationen getestet werden und zeigte für alle simulierten Steifigkeiten eine gute Übereinstimmung. Die effektive Ausdehnung wurde hierbei aus der mittleren quadratischen Ausdehnung des Polymers bei voller Ausrichtung in Flussrichtung ermittelt ($L_{\text{diff}}^2 = \langle R_{\text{ee}}^2(\phi = 0) \rangle$). Die ermittelten Tumblingzeiten sind in Abbildung 4.20 als offene Quadrate gezeigt.

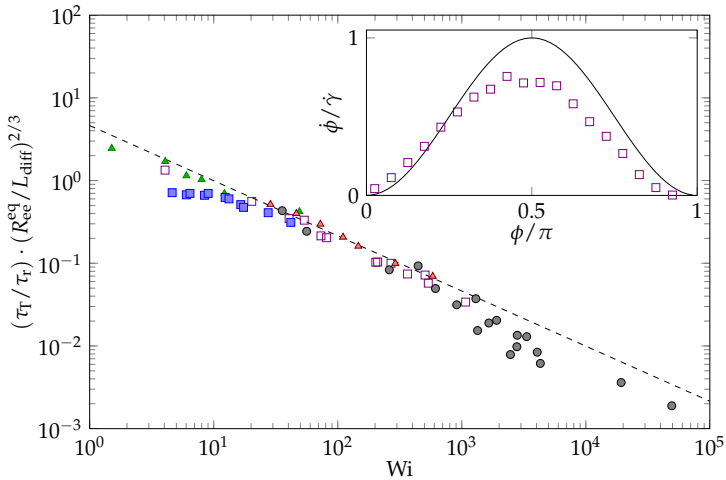


Abbildung 4.20: Dimensionlose Tumblingzeiten τ_T / τ_r multipliziert mit $(R_{ee}^{eq} / L_{diff})^{2/3}$ von Aktin-Filamenten (graue Kreise) gegen die Weissenbergzahl Wi aufgetragen. Zum Vergleich sind die Daten der NEBD-Simulationen (lila Quadrate), die Daten aus Messungen mit $22 \mu\text{m}$ langen DNA-Molekülen aus [41] und die Daten aus Messungen mit $22 \mu\text{m}$ und $80 \mu\text{m}$ langen DNA-Molekülen aus [3] aufgetragen. L_{diff} wurde für die DNA-Daten über $L_{diff}^2 = (0.75L_c)^2$ angenommen, was sich aus der in [3] gezeigten mittleren Ausdehnung motivieren lässt. Für die Simulationsdaten wurde $L_{diff}^2 = \langle R_{ee}^2(\phi = 0) \rangle$ verwendet. Die Daten stimmen sehr gut mit der Voraussage von Formel 4.31 (gestrichelte Linie) überein. **Inset** Die mittlere Winkelgeschwindigkeit eines simulierten Polymers bei $Wi \sim 1000$ (offene Quadrate) aufgetragen gegen den Winkel ϕ . Im Vergleich zum Verhalten nicht-brownscher steifer Stäbe (Schwarze Linie) zeigt sich qualitativ immer noch eine gute Übereinstimmung.

Desweiteren wurden die Daten der Tumblingzeiten von DNA-Molekülen aus anderen Publikationen [3, 41] grafisch extrahiert und ebenfalls in Abbildung 4.20 dargestellt. Für diese Datenpunkte wurde mangels genauer Information für $L_{\text{diff}}^2 = 0.75L_c^2$ angenommen, was sich aus den publizierten mittleren Ausdehnungen in Flussrichtung motivieren lässt. Für kleine Weissenbergzahlen ($Wi < 50$) ist diese Annahme sehr hoch, trotzdem zeigt sich eine gute Übereinstimmung von Formel 4.31 mit den publizierten Daten.

4.4 Orientierungs- und Ausdehnungsverhalten

Das Ausdehnungsverhalten von Aktin-Filamenten im Scherfluss ist durch die auftretenden Kompressions- und Dehnungskräfte während der Tumblingbewegung bestimmt. Im Stadion-Modell wird die Bewegung der Filamentsegmente aufgrund dieser auftretenden Kräfte durch eine U-förmige Bahnkurve angenähert, welche mit einer konstanten Bahngeschwindigkeit durchlaufen wird. Da die Änderung der x -Komponente des End-zu-End-Vektors X_{ee} im Modell mit konstanter Geschwindigkeit erfolgt, müsste dieses Verhalten sich auch in der Verteilungsfunktion der Ausdehnung des Filaments in Flussrichtung widerspiegeln. Die Folge wäre somit eine gleichverteilte Wahrscheinlichkeit für den End-zu-End-Abstand um $X_{ee} = 0$. In der Tat wird für längere $L_c > 5 \mu\text{m}$ Aktin-Filamente eine annähernd konstante Verteilungsfunktion $\text{PDF}(R_{ee})$ des End-zu-End-Abstandes $R_{ee} = \sqrt{X_{ee}^2 + Y_{ee}^2}$ bzw. eine annähernd konstante Steigung der kumulativen Verteilungsfunktion $\text{cPDF}(R_{ee}) = \int_0^{R_{ee}} \text{PDF}(R'_{ee}) dR'_{ee}$ für kleine End-zu-End-Abstände ($R_{ee} < 0.7L_c$) beobachtet (siehe Abb. 4.21). Für kurze Filamente, kürzer als die Knicklänge, ist dies nicht mehr zu beobachten (vgl. Abb. 4.21(a) und 4.21(d)), da diese nicht mehr durch das Stadion-Modell beschrieben werden.

In Abbildung 4.21 ist zum Vergleich das theoretisch erwartete Gleichgewichtsverhalten der Verteilungsfunktion des End-zu-End-Abstandes nach [60] aufgetragen. Man erkennt, dass Aktin-Filamente im Scherfluss wesentlich öfter kleinere End-zu-End-Abstände aufweisen. Dies ist auf die gebogenen Konformationen zurückzuführen, welche im Gleichgewicht aufgrund der hohen Biegeenergien typischerweise nicht auftreten.

Das Orientierungsverhalten von Aktin-Filamenten im Scherfluss wird durch das Zusammenspiel der Rotationskomponente des Scherflusses und der Diffusionsbewegung im quasi-ausgerichteten Zustand bestimmt. Die Dyna-

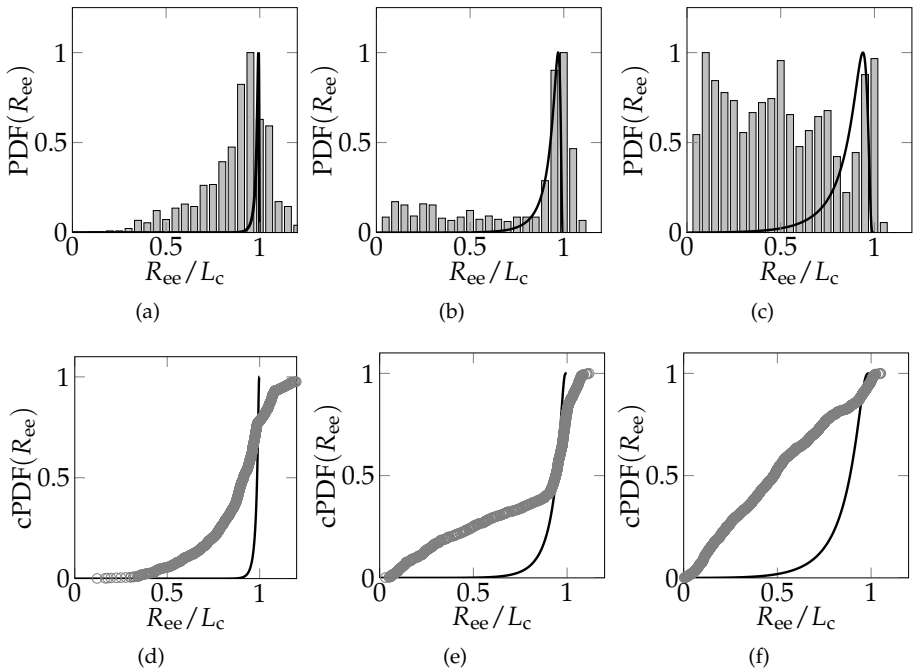


Abbildung 4.21: Die Verteilungsfunktion $PDF(R_{ee})$ (graue Balken) eines 4 μm langen (a), eines 16 μm langen (b) und eines 34 μm langen Aktin-Filaments (c) im Scherfluss ($\dot{\gamma} \sim 6 \text{ s}^{-1}$) im Vergleich zu der theoretischen Verteilungsfunktion (schwarze Linie) des Gleichgewichtszustandes nach [60]. Die Verteilungen wurden zur besseren Übersichtlichkeit auf das jeweilige Maximum normiert. Im Scherfluss werden Zustände mit kleineren End-zu-End-Abständen öfter bevölkert als im Gleichgewicht. Vor allem für längere Filamente ($L_c > 8 \mu\text{m}$) im Bereich $R_{ee} < 0.8L_c$ ergeben sich annähernd gleichverteilte Verteilungen. In den zugehörigen kumulativen Verteilungsfunktionen $cPDF(R_{ee})$ (graue Kreise) in (d), (e) und (f) ist dies durch einen konstanten Anstieg der Funktion bei kleinen Werten von R_{ee} erkennbar. Die theoretische kumulative Verteilungsfunktion für das Gleichgewichtsverhalten (schwarze Linie) verdeutlicht diesen Unterschied nochmals. Aufgrund signifikanter Auslenkungen in z -Richtung werden bei kurzen Filamenten, wie dem 4 μm langen Aktin-Filament, auch kleine R_{ee} -Werte gemessen, obwohl höchstens schwach gebogene Konformationen beobachtbar sind. Die Messwerte mit $R_{ee} > L_c$ sind auf Messfehler und auf die Limitierung der optischen Auflösung zurückzuführen.

mik des Orientierungswinkels ϕ ist, wie im Stadion-Modell erläutert, durch die winkelabhängige Dynamik eines steifen Stabes beschreibbar und resultiert (ohne thermische Fluktuationen) in der Winkelgeschwindigkeit $\omega(\phi) = \dot{\gamma} (\sin^2 \phi + \kappa_J^2 \cos^2 \phi)$ mit dem Durchmesser-zu-Längen-Verhältnis κ_J (vgl. [27]). Die Winkelbewegung wird durch die Rotationsdiffusionsbewegung gestört, wobei die Stärke durch die Rotationsdiffusionskonstante D_r angegeben wird. Hieraus lässt sich die Fokker-Plank-Gleichung dieses Problems aufstellen, welche von der Verteilungsfunktion des Orientierungswinkels $p(\phi)$ erfüllt wird:

$$\frac{dp(\phi)}{dt} = \frac{d(\omega(\phi)p(\phi))}{d\phi} + 2D_r \frac{d^2p(\phi)}{d\phi^2}. \quad (4.32)$$

Betrachtet man das Fließgleichgewicht ($\frac{dp(\phi)}{dt} = 0$), vereinfacht sich obige Gleichung und die stationäre Lösung $p_{\text{stat}}(\phi)$ errechnet sich mittels der Methode der Variation der Konstanten (siehe Anhang 3):

$$p_{\text{stat}}(\phi) = C \left(\int_{\phi_0}^{\phi} \exp(a\phi + b \sin(2\phi)) d\phi \right) \cdot \exp(-(a\phi + b \sin(2\phi))). \quad (4.33)$$

Hierbei bezeichnet $a = \frac{\dot{\gamma}(\kappa_J^2+1)}{4D_r}$, $b = \frac{\dot{\gamma}(\kappa_J^2-1)}{8D_r}$, ϕ_0 eine beliebige Integrationsgrenze ($\phi_0 \leq -\frac{\pi}{2}$) und der Vorfaktor C ergibt sich dabei aus der Bedingung $\int p(\phi)d\phi = 1$. Im Falle von Aktin-Filamenten ist $\kappa_J \sim 10^{-3}$ vernachlässigbar und somit ergibt sich

$$a = \frac{1}{4} \frac{\dot{\gamma}}{D_r} = \frac{1}{4} \phi_c^{-1/3}, \quad (4.34)$$

$$b = -\frac{1}{8} \frac{\dot{\gamma}}{D_r} = -\frac{1}{2} a. \quad (4.35)$$

Gleichung 4.33 kann nur in einem begrenzten Bereich numerisch berechnet werden, da die vordere Klammer im interessanten Parameterbereich ($L_c > 8 \mu\text{m}$ und $\dot{\gamma} \sim 4 \text{s}^{-1}$) sehr große Werte ($> 10^{300}$) annehmen kann. Für kurze Filamente oder in einem eingeschränkten Winkelbereich kann sie ausgewertet und mit den Verteilungsfunktionen des Orientierungswinkels von Aktin-Filamenten verglichen werden (siehe Abbildung 4.22). Vor allem für kürzere Filamente ($L_c < 8 \mu\text{m}$) zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen $\text{PDF}(\phi)$ und $p_{\text{stat}}(\phi)$, während für längere Filamente Abweichungen zu beobachten sind.

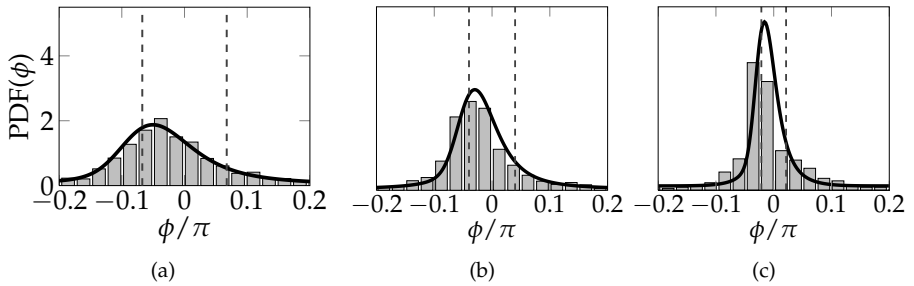


Abbildung 4.22 : Verteilungsfunktionen des Orientierungswinkels $\text{PDF}(\phi)$ (graue Balken) für ein $4\ \mu\text{m}$ langes (a), $8\ \mu\text{m}$ langes (b) und $17\ \mu\text{m}$ langes Aktin-Filament (c) bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} \sim 6\ \text{s}^{-1}$. Die stationäre Lösung der Fokker-Planck-Gleichung (schwarze Linie) zeigt hierbei eine gute Übereinstimmung vor allem für kürzere Filamente. Der berechnete kritische Winkel $\pm\phi_c$ wird durch die gestrichelte Linie markiert.

Dieses Verhalten kann mit der kürzeren Verweildauer der Filamente in der diffusiven Phase im Vergleich zu steifen Stäben erklärt werden (vgl. 4.3.4).

Kapitel 5

Verschlaufte Aktin-Filamente im Scherfluss

Bei komplexen Flüssigkeiten können die viskosen Eigenschaften des Lösungsmittels und der weiteren Inhaltsstoffe getrennt betrachtet werden. So kann die Viskosität einer einfachen Polymerlösung η als Summe zweier Terme η_s und η_p berechnet werden, wobei η_s die Viskosität des Lösungsmittels und η_p den durch die Polymere verursachten zusätzlichen Viskositätsanteil bezeichnet. Der Anteil der Polymere an der Viskosität wird bei niedrigen Polymerkonzentrationen c durch die Reibung des einzelnen Polymers am Lösungsmittel bestimmt. Polymer-Polymer-Wechselwirkungen sind erst bei höheren Konzentrationen relevant. Ab einer gewissen Konzentration, der sog. Überlappkonzentration c^* , kommen sich die Polymere so nahe, dass sie sich verschlaufen. Die Polymer-Polymer-Wechselwirkungen bestimmen dann mit zunehmender Konzentration die Viskositätseigenschaften. Die Bewegung eines einzelnen verschlaufenen Polymers ist durch die Verschlaufungen stark limitiert und wurde in den Arbeiten von DeGennes [61] und Doi-Edwards [9] beschrieben.

Bei Polymerlösungen im Scherfluss können sich die viskosen Eigenschaften abhängig von der Scherrate so ändern, dass Effekte wie Scherverdünnung oder Scherverdickung auftreten. Das mikroskopische Verhalten der Polymere ist der Schlüssel, um diese Effekte zu berechnen bzw. zu modellieren. Jedoch ist dies nur mit sehr großem numerischen Aufwand in Simulationen beobachtbar [62]. In [63] konnten einzelne verschlaufte DNA-Moleküle im Scherfluss beobachtet werden, und deren Ausdehnungs- und Relaxationsverhalten wurde mit mehreren Polymer-Modellen verglichen. Es zeigte sich, dass einige konformationelle und rheologische Eigenschaften von DNA-Lösungen universellen Gesetzmäßigkeiten unterliegen, wenn sie in Abhängigkeit der konzentrationsabhängigen Weissenbergzahl Wi_c ausgedrückt werden. Aufgrund der experimentellen Beobachtungsbedingungen konnte die konformationelle Dynamik des einzelnen

Polymers jedoch nicht klar genug erfasst werden und Tumbling-Ereignisse konnten nur vermutet aber nicht beobachtet werden. Ein direkter Vergleich der dynamischen Eigenschaften der verschlaufenen und unverschlaufenen Polymere war daher nicht möglich. Die Frage, wie sich die Einzel-Polymer-Dynamik im Scherfluss bei steigender Polymerkonzentration ändert, konnte nicht beantwortet werden.

Diese Fragestellung wurde in [64] und [65] mit Brown'schen Dynamik Simulationen unter Vernachlässigung hydrodynamischer Wechselwirkungen untersucht. Es zeigte sich dabei eine große qualitative Ähnlichkeit zwischen der Dynamik eines einzelnen Polymers in verdünnter und höher konzentrierter Lösung. So wiesen die zeitabhängigen Korrelationsfunktionen oszillatorische Relaxationsverläufe auf, was eine Tumbling-Bewegung vermuten lies. Die Vernachlässigung hydrodynamischer Wechselwirkungen in den Simulationen stellte jedoch eine starke Vereinfachung dar, da in halb-verdünnter Lösung diese Wechselwirkungen eine entscheidende Rolle spielen [65].

In zwei theoretischen Arbeiten [66, 35] wurden kombinierte Molekular-Dynamik und Multi-Partikel-Kollisions-Dynamik Simulationen von modellierten halbverdünnten¹ Polymerlösungen am Jülich-Supercomputer-Centre durchgeführt und ausgewertet. Die Autoren bestätigten, dass die Verteilungen des Orientierungswinkels und die Tumblingzeiten universelle Abhängigkeiten aufweisen, wenn diese in Abhängigkeit von Wi_c ausgedrückt werden. Zudem konnte die Änderung der konformationellen Eigenschaften mit zunehmender Konzentration durch eine ebenfalls zunehmende effektive Abschirmung der hydrodynamischen Wechselwirkung erklärt werden.

Ein anschauliche Darstellung der Änderung der konformationellen Dynamik eines individuellen Polymers beim Übergang zu halbverdünnten Polymerlösungen wurde jedoch nicht gegeben. Daher wurde mit der Methode aus Abschnitt 4 eine halbverdünnte Aktin-Lösung im Scherfluss beobachtet und der Einfluss der Anwesenheit der umgebenden Filamente auf das Verhalten des einzelnen Aktin-Filaments untersucht.

5.1 Versuchsdurchführung

Dialysiertes G-Aktin wurde in möglichst hoher Konzentration wie in Abschnitt 2.1 beschrieben polymerisiert, jedoch wurde vor der Zugabe des Phalloidins die Lösung in zwei gleiche Teile aufgeteilt. Beide Teile wurden daraufhin

¹halbverdünnte Lösungen (*engl. semidilute*) bezeichnen Polymerlösungen mit einer Polymerkonzentration überhalb der Überlappkonzentration aber unterhalb der sog. cross-over Konzentration

mit Alexa-Fluor488-Phalloidin bzw. unmodifiziertem Phalloidin polymerisiert. Nach der Polymerisierung wurde die Fluoreszenz-markierte F-Aktin-Lösung verdünnt und zusammen mit der nicht-fluoreszenz-markierten F-Aktin-Lösung so mit einer Sucrose-Lösung (2 mM Tris, 0.2 mM ATP, 0.2 mM CaCl_2 , 0.2 mM DTT and 0.005% NaN_3 , pH 8, 65% (w/v) sucrose) vermischt, dass die optische Dichte der Lösung derjenigen des Mikrofluidik-Kanals entsprach (vgl. 2.2.2). Die Konzentration der fluoreszenz-markierten Aktin-Filamente, sogenannte *Reporter-Filamente*, wurde auf 0.5 nM eingestellt, womit sie im Mikroskop einzeln zu beobachten waren. Die nicht-fluoreszenz-markierten Aktin-Filamente, hier als *Bulk-Filamente* bezeichnet, konnten im Mikroskop nicht beobachtet werden.

Diese Lösung wurde, wie in Kapitel 4 beschrieben, durch einen Mikrofluidik-Kanal gepumpt. Die Reporter-Filamente konnten so einzeln beobachtet werden, obwohl sie von tausenden Bulk-Filamenten umgeben waren. Die Gesamtkonzentration wurde auf Werte von 10 μM eingestellt, was deutlich über der Überlapp-Konzentration von Aktin-Filamenten $c^* \sim 0.5 - 1 \mu\text{M}$ [67] liegt.

5.2 Konformationseigenschaften von verschlauften Aktin-Filamenten im Scherfluss

Die Aktin-Filamente mit unterschiedlicher Gesamt-Konzentration wurden analog zu Kapitel 4 beobachtet und die Ergebnisse dieses Abschnitts entstanden teilweise während der Betreuung der Bachelor-Arbeit von Fabian Zeller [68]. Bei einer Aktin-Konzentration nahe der Überlapp-Konzentration $c \approx c^*$ zeigten sich keine Unterschiede im konformationellen Verhalten im Vergleich zur verdünnten Aktin-Lösung. Es ergaben sich auch hier typische Konformationsverläufe eines Tumbings, die sich durch U-förmige Konformationen auszeichnen (vgl. Abbildung 5.1). Das Tumbling-Verhalten der Aktin-Filamente zeigte keinen Einfluss der umgebenden Bulk-Filamente.

Bei höheren Aktin-Konzentrationen traten jedoch neue Konformationsverläufe auf, welche sich in verdünnter Lösung nicht beobachten ließen. Bei einer Konzentration von $c = 7 \mu\text{M}$ wiesen die beobachteten Reporter-Filamente vermehrt eine voll gestreckte Konformation auf. Diese ausgedehnten Perioden gestreckter Konformationen wurden von »normalen« und »abgebrochenen« Tumbling-Ereignissen unterbrochen. Ein Beispiel für ein solches abgebrochenes Tumbling-Ereignis ist in Abbildung 5.2 dargestellt. Das Aktin-Filament zeigt dabei das Anfangsverhalten eines normalen Tumbling-Ereignisses, indem es

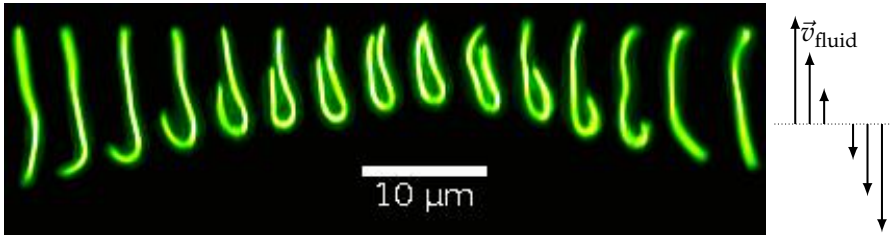


Abbildung 5.1 : Das beobachtete Aktin-Filament in halbverdünnter Lösung ($c = 1 \mu\text{M}$) zeigt sehr ähnliche Konformationsverläufe wie im verdünnten Fall. Die Einzelbilder zeigen von links nach rechts das typische abschnittsweise U-förmige Verhalten während eines Tumbling-Ereignisses. Die Geometrie des Scherflusses ist im Schwerpunktsystem rechts schematisch dargestellt.

aus einer voll gestreckten Konformation in eine stark gebogene Konformation übergeht. Die advective Passage der Filamentsegmente wird dabei jedoch nicht oder nur teilweise ausgeführt; die Tumbling-Bewegung wird abgebrochen. Entgegen der Flussbewegung der umgebenden Flüssigkeit geht das Filament wieder in eine voll-gestreckte Konformation über.

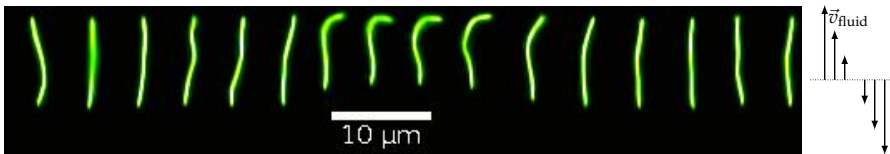


Abbildung 5.2 : Einzelbilder des Konformationsverlaufs (links nach rechts) eines »abgebrochenen« Tumbling-Ereignisses. Das Filament geht dabei aus einer gestreckten Konformation in eine stark gebogene Konformation ohne diese durch die vollständige Passage der Filamentsegmente aufzulösen. Die gebogene Konformation wird dann gegen die Flussbewegung der umgebenden Flüssigkeit (siehe Skizze rechts) aufgelöst.

Zusätzlich wurden bei dieser Konzentration »anormale« Tumbling-Ereignisse beobachtet, bei denen die Tumbling-Bewegung gegenläufig zu Flussrichtung der umgebenden Flüssigkeit durchlaufen wird. Dieser Konformationsverlauf widerspricht den Flusseigenschaften und ist daher nicht mit den auftretenden Reibungskräften zwischen Filament und Lösungsmittel zu erklären. Daher müssen die Wechselwirkungen des Reporter-Filaments mit den Bulk-Filamenten diesen Konformationsverlauf verursachen.

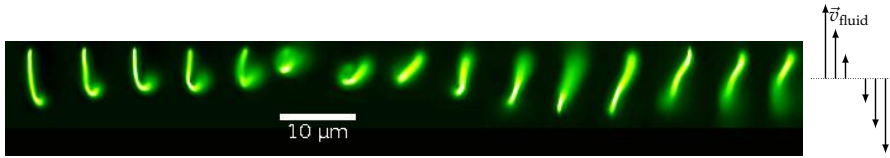


Abbildung 5.3 : Einzelbilder des Konformationsverlaufs (links nach rechts) eines »anormalen« Tumbling-Ereignisses. Das Filament durchläuft dabei einen typischen Konformationsverlauf eines Tumbling-Ereignisses, jedoch entgegen der durch den Scherfluss vorgegeben Richtung. Die Geometrie des Scherflusses ist im Schwerpunktsystem rechts schematisch dargestellt.

Eine solche Filament-Filament Wechselwirkung konnte direkt in einer verschlauften F-Aktin-Lösung mit einem signifikant höheren Anteil an Reporter-Filamenten beobachtet werden. In Abbildung 5.4 ist die Verschlaufung zweier Aktin-Filamente dargestellt, die beide stark gebogene Konformationen aufweisen. Beide Filamente werden durch die gegenseitige Verschlaufung daran gehindert eine Tumbling-Bewegung wie im verdünnten Fall zu durchlaufen.

Solche Verschlaufungen der Filamente werden mit zunehmender Filamentlänge wahrscheinlicher, da ein längeres Filament mehr mögliche Interaktionspunkte besitzt. Dies gilt für die Bulk-Filamente gleichermaßen, weshalb die Längenverteilung der Bulk-Filamente diese Interaktionen begünstigen kann. Daher wird der Einfluss der Längenverteilung der Bulk-Filamente im folgenden Abschnitt untersucht.

5.3 Dynamik verschlauerter Aktin-Filamente im Scherfluss

Verschlaufte Aktin-Filamente wurden bei einer Aktin-Konzentration von 5 μM beim Fluss in einem Mikrokanal beobachtet. Die beobachteten Filamente wiesen eine deutlich verminderte Dynamik im Tumblingverhalten im Vergleich zum verdünnten Fall auf. So konnte während der Beobachtungszeit nur sehr selten ein Tumblingereignis beobachtet werden, und die Filamente lagen meistens in einer voll-gestreckten Konformation vor. In Abbildung 5.5 ist als Beispiel der Konformationsverlauf eines 4 μm langen Aktin-Filaments bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 4 \frac{1}{s}$ dargestellt. Das Filament ist dabei fast während der gesamten Be-

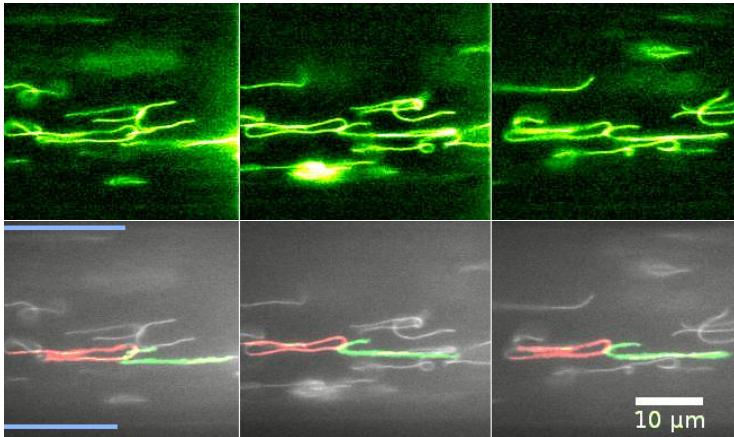


Abbildung 5.4 : Beispiel einer Verschlaufung zweier Aktin-Filamente im Scherfluss in drei aufeinanderfolgenden Bildern. Zur Verdeutlichung sind die beiden Filamente im unteren Bild rot bzw. grün eingefärbt. Durch die gegenseitige Verschlaufung werden beide Filamente am Durchlaufen einer Tumbling-Bewegung gehindert. die Positionen der Kanalwände ist im ersten Bild blau markiert.

obachtungszeit voll zur Flussrichtung orientiert, nur am Ende der Beobachtung findet ein Tumblingereignis statt.

Ein Vergleich der Dynamik des Orientierungswinkels ϕ dieses Aktin-Filaments mit der Dynamik eines Aktin-Filaments in verdünnter Lösung ist in unter anderem Abbildung 5.8 dargestellt. Es zeigt sich dabei eine deutliche verminderte Dynamik des Orientierungswinkels und somit auch der Tumbling-Dynamik. Die Tumbling-Dynamik des einzelnen verschlauferten Aktin-Filaments wird demnach durch die Präsenz der Bulk-Filamente stark vermindert.

Der Einfluss dieser Verschlaufungen sollte sehr stark von der Längenverteilung der Bulk-Filamente abhängig sein, da lange Filamente mehr Interaktions-Möglichkeiten besitzen als kurze Filamente. Daher wird im Folgenden der Einfluss der Längenverteilung der Bulk-Filamente untersucht.

5.4 Einfluss der Polydispersität der Bulk-Filamente

Um den Einfluss der Längenverteilung der Bulk-Filamente zu untersuchen, wurde die Längenverteilung der Bulk-Filamente durch die Zugabe von Gelso-

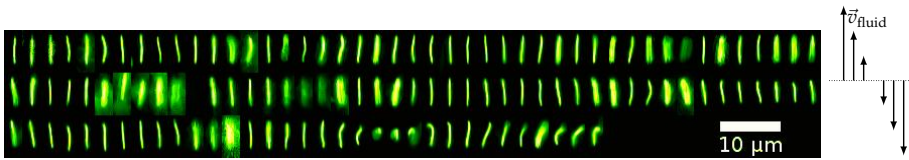


Abbildung 5.5 : Einzelbilder des 60 s langen Konformationsverlaufs eines 4 μm langen Aktin-Filaments bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 4 \frac{1}{8} \text{ s}^{-1}$. Das Filament ist fast während des gesamten Beobachtungszeitraums in Flussrichtung orientiert, nur am Ende findet ein Tumblingereignis statt. Die Geometrie des Scherflusses ist im Schwerpunktsystem rechts schematisch dargestellt. Der zeitliche Abstand der Einzelbilder beträgt 494 ms.

lin verändert. Gelsolin gehört zu einer Familie Aktin-schneidender-Proteine bzw. Capping-Proteinen, welche die Längenverteilung von Aktin-Filamenten deutlich verändern bzw. verkürzen können (vgl. [24, 69]). Mit der Änderung der Längenverteilung wird gleichzeitig die Überlapp-Konzentration verändert (vgl. [9]), und ein Übergang zum Verhalten im verdünnten Fall ist hierbei zu erwarten. Durch die konstante Monomer-Konzentration werden hierbei die Lösungsmitelegenschaften unabhängig vom Polymerisationsgrad konstant gehalten.

Es wurden drei Aktin-Lösungen mit einer Endkonzentration an Aktin von 5 μM gemäß Abschnitt 2.1 für die Polymerisierung gemischt: Eine ohne Zugabe von Gelsolin und zwei unter Zugabe Gelsolin mit einem Verhältnis von Aktin- zu Gelsolin-Molekülen von 500:1 bzw. 100:1. Von jeder Mischung wurde eine kleine Test-Menge separiert und die Polymerisierung wurde unter Zugabe von Phalloidin initiiert, wobei bei einer kleinen Test-Menge fluoreszenzmarkierten Alexa488-Phalloidin verwendet wurde. Da die jeweiligen Lösungen und ihre Testmengen bis auf das verwendete Phalloidin eine identische Mischungsgeschichte besitzen, kann eine identische Längenverteilung angenommen werden. Die Phalloidin-stabilisierten Aktin-Filamente konnten so wie im vorhergehenden Abschnitt als Bulk-Filamente genutzt werden, während die Längen-Verteilung der Aktin-Filamente der jeweils separierten Test-Mengen unter dem Fluoreszenz-Mikroskop untersucht wurde.

In Abbildung 5.6 sind Beispielbilder der Testmengen dargestellt, welche die Längenverteilung illustrieren. Während bei der Lösung ohne Gelsolin Aktin-Filamente von einigen zehn Mikrometern Länge zu beobachten sind, kann man bei einem Aktin/Gelsolin Verhältnis R von $R = 500 : 1$ höchstens 5 – 6 μm lange Filamente und bei $R = 100 : 1$ höchstens 2 – 3 μm lange Filamente beobachten. Da die Längenverteilung von Aktin-Filamenten nach [24] typischerweise expo-

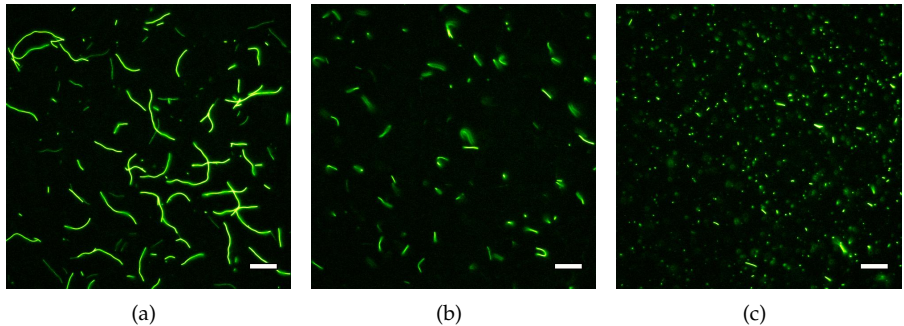


Abbildung 5.6 : Fluoreszenz-mikroskopische Aufnahmen von Aktin-Filamenten die (a) ohne Zugabe von Gelsolin ($R = \infty : 1$), (b) mit Zugabe von Gelsolin im Verhältnis Aktin/Gelsolin von $R = 500 : 1$ und (c) mit Zugabe von Gelsolin im Verhältnis Aktin/Gelsolin von $R = 100 : 1$ polymerisiert wurden. Die Längenverteilung der Aktin-Filamente verändert sich dabei unter Zugabe von Gelsolin zu kleineren Filamentlängen. Bei allen Lösungen betrug die Gesamtkonzentration an Aktin $5 \mu\text{M}$. (Maßstab $10 \mu\text{m}$)

nentiell mit der Länge abnimmt, geben diese Werte eine obere Grenze an, ab der längere Filamentlängen nur noch sehr selten vorkommen.

5.4.0.1 Verhalten und Dynamik im Scherfluss

Die nicht-fluoreszenz-markierten Aktin-Filamente wurden mit Reporter-Filamenten gemischt, und die gesamte Lösung wurde im Scherfluss eines Mikrofluidik-Kanals beobachtet. Bei den beobachteten Lösungen betrug die Gesamtkonzentration an Aktin $5 \mu\text{M}$ und somit über der Überlappkonzentration $c^* = 1 - 2 \mu\text{M}$, welche für Aktin-Filamente ohne Gelsolin bestimmt wurde. Es wurden für beide Gelsolin-Konzentrationen jeweils ein einzelnes Aktin-Filament beobachtet und digital erfasst, welches eine vergleichbare Scherrate und eine vergleichbare Konturlänge zu dem Filament aus Abbildung 5.5 aufwies. Bei einem Aktin/Gelsolin Verhältnis von $R = 500 : 1$ traten bei dem beobachteten Filament normale und anormale Tumbings auf, jedoch war die Dynamik im Vergleich zum verdünnten Fall immer noch deutlich vermindert. Bei einem Aktin/Gelsolin Verhältnis von $R = 100 : 1$ traten sehr viele - ausschließlich normale - Tumbling-Ereignisse auf und die Dynamik war vergleichbar zu der im verdünnten Fall. Die Konformationsverläufe beider Filamente ist in Abbildung 5.7 dargestellt.

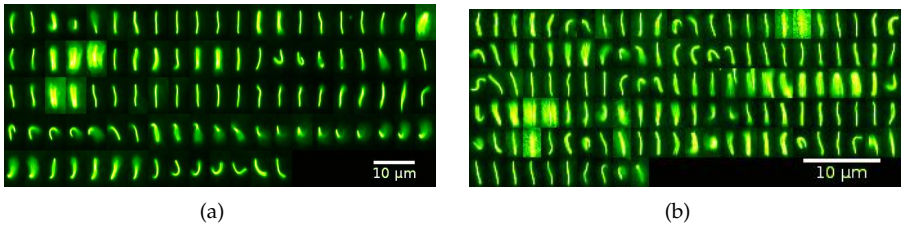


Abbildung 5.7 : (a) Einzelbilder des Konformationsverlaufs eines 5 µm langen Aktin-Filaments bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 4 \frac{1}{5}$ bei einem Aktin/Gelsolin Verhältnis von $R = 500 : 1$. Das Filament zeigt normale und anormale Tumblingereignisse. (b) Einzelbilder des Konformationsverlaufs eines 6 µm langen Aktin-Filaments bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 5 \frac{1}{5}$ bei einem Aktin/Gelsolin Verhältnis von $R = 100 : 1$. Das Filament zeigt eine häufige normale Tumblingbewegung. Die Geometrie des Scherflusses ist bei beiden Abbildungen die gleiche wie in Abbildung 5.5 dargestellt. (Maßstab 10 µm)

Der Vergleich der Orientierungsdynamik in Abbildung 5.8 zeigt, dass bei höheren Gelsolin-Konzentrationen und somit kürzeren Bulk-Filamenten die Dynamik des Orientierungswinkels sich dem Verhalten im verdünnten Fall annähert. Bei längeren Bulk-Filamenten dagegen verlängern sich die Perioden mit in Flussrichtung ausgerichteten Konformationen und es treten anormale Tumbling-Ereignisse auf. Bei sehr langen Bulk-Filamenten sind fast nur noch voll ausgerichtete Konformationen beobachtbar. Die Tumbling-Dynamik des einzelnen verschlauften Polymers ist somit sehr stark von der Längenverteilung der umgebenden Filamente abhängig.

Hierbei ist zu beachten, dass die makroskopische Viskosität der Lösung ebenfalls von der Längenverteilung der Filamente abhängig ist. Es ist daher möglich, dass die beobachtete verminderte Dynamik im Vergleich zum verdünnten Fall über eine mittlere höhere Viskosität in der Relaxationszeit in Gleichung 4.31 beschreibbar ist. Diese Frage ist durch Kontrollmessungen bei höherer Viskosität im verdünnten Fall zu klären und wird in künftigen Arbeiten von Benjamin Huber adressiert.

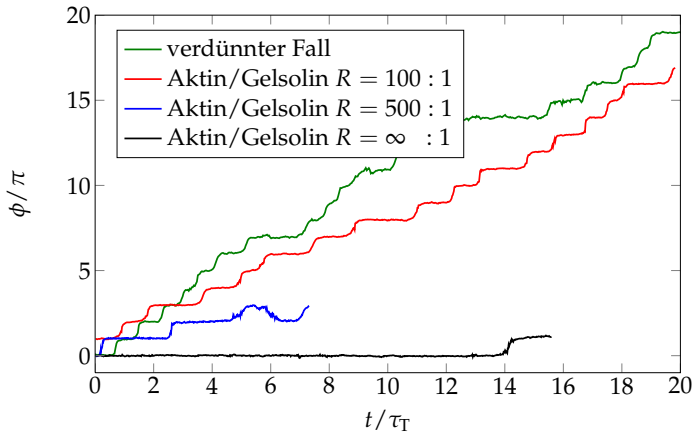


Abbildung 5.8 : Verlauf des Orientierungswinkels von Aktin-Filamenten im Scherfluss. Gezeigt werden vier Fälle: ein $3\ \mu\text{m}$ langes Aktin-Filament in verdünnter Lösung, ein verschlauftes $4\ \mu\text{m}$ langes Aktin Filament ohne Gelsolin (rote Linie), ein $5\ \mu\text{m}$ langes verschlauftes Aktin-Filament bei einem Aktin/Gelsolin Verhältnis von $R = 500 : 1$ (blaue Linie) und ein $6\ \mu\text{m}$ langes verschlauftes Aktin-Filament bei einem Aktin/Gelsolin Verhältnis von $R = 100 : 1$. Alle verschlaufte Aktin-Filamente befanden sich in einer Lösung mit einer Aktin-Konzentration von $c = 5\ \mu\text{M}$. Alle Filamente befanden sich in einem Scherfluss mit einer Scherrate $\dot{\gamma} \sim 4\ \frac{1}{\text{s}}$. Zur besseren Vergleichbarkeit wurde die Zeit für jedes Filament mit der berechneten Tumblingzeit τ_T für den verdünnten Fall (Formel 4.15) normalisiert, wobei die Viskosität des reinen Lösungsmittels verwendet wurde. Während das Filament bei einer hohen Gelsolin-Konzentration (rote Linie) eine ähnliche Dynamik aufweist wie im verdünnten Fall, besitzt das Filament (blaue Linie) mit der niedrigeren Gelsolin Konzentration eine deutlich verminderte Dynamik im Vergleich zum verdünnten Fall. Das Filament ohne Gelsolin (schwarze Linie) zeigt über die gesamte Beobachtungsdauer nur ein Tumbling und bleibt meist in Flussrichtung orientiert.

Kapitel 6

Ausblick

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich die Beobachtung von Aktin-Filamenten in Mikrofluidik-Kanälen gut dazu eignet, Einblicke in die dynamischen Eigenschaften von einzelnen Polymeren im Scherfluss zu erhalten. Aufbauend auf diesen Ergebnissen ergeben sich neue Fragestellungen, die hier kurz umrissen werden.

In Kapitel 4 wurde die Tumblingdynamik einzelner Aktin-Filamente im annähernd einfachen Scherfluss untersucht und in guter quantitativer Übereinstimmung modelliert. Eine Änderung der Flusseigenschaften durch die Implementierung eines zusätzlichen Elongationsflusses oder Rotationsflusses würde tiefgehende Einblicke auf die Reaktion der Konformationseigenschaften von Polymeren auf unterschiedliche Flussbedingungen ermöglichen. Experimentell wären diese Flusseigenschaften durch sich verjüngende oder gekrümmte Kanäle zu realisieren, und die Konformationseigenschaften könnten analog zu Kapitel 4 bestimmt werden. Darauf aufbauend könnte man Kanalgeometrien realisieren, die eine bestimmte Konformation der Polymere an einer vorher festgelegten Stelle des Kanals forciert, was für Anwendungen im Bereich der Gensequenzierung interessant ist [70, 71, 72, 73, 74].

Eine weitere interessante Möglichkeit wäre es durch die Kombination von alternierend gekrümmten bzw. verjüngten Kanälen und einer oszillierenden Flussrate, Polymere in oszillierenden Elongationsflüssen bzw. Scherflüssen zu beobachten. Durch diese Kombination könnten sehr einfach vielfältige Flusseigenschaften eingestellt und die individuelle Reaktion eines Polymers beobachtet werden. Für solche Fragestellungen wurden in früheren Arbeiten noch aufwendig speziell angefertigte Mikroskopaufbauten konzipiert [3, 2] oder Großgeräte aufwändig [75] kombiniert.

In Kapitel 5 wurde gezeigt, dass die verminderte Dynamik der verschlauften Aktin-Filamente bei langen Bulk-Filamenten durch Filament-Filament-Verschlaufungen erklärbar ist (vgl. Abb.5.4), da diese Tumbling-Ereignisse ent-

scheidend stören und zu anormalen und abgebrochene Tumblingereignissen führen können. Dies spielt jedoch erst bei gebogenen Konformationen in der advektiven Phase eine Rolle, da hier die Advektion durch Verschlaufungen gestört werden kann. In der Dynamik des Orientierungswinkels (siehe Abb. 5.8) und in der zugehörigen Konformations-Dynamik (siehe Abb. 5.5) ist bei langen Bulk-Filamenten jedoch hauptsächlich eine voll gestreckte und zur Flussrichtung ausgerichtete Konformation erkennbar. Verschlaufungen in dieser diffusiven Phase sind unwahrscheinlich, da sie bei den Reporter-Filamenten nicht beobachtet werden konnten. Zudem würden Reibungskräfte auf solche Verschlaufungen parallel zur Filamentachse auftreten und somit eine »Entschlaufung« begünstigen.

Daraus ergibt sich die Frage, ob die verminderte Tumbling-Dynamik rein aufgrund der Filament-Filament-Verschlaufungseffekte in der advektiven Phase oder durch eine verminderte Rotationsdynamik in der diffusiven Phase erklärt werden kann. Eine Antwort könnte sich aus einer Auswertung der Verteilung des Orientierungswinkels schließen lassen. Aus der stationären Verteilung des Orientierungswinkels könnte im stationären Fall (bei Erfassung ausreichend vieler Tumblingereignisse) auf die Diffusionseigenschaften in der diffusiven Phase zurück geschlossen werden.

Eine weitere Einsicht könnte die Messung der Verteilung der Tumblingzeiten von verschlaufenen Aktin-Filamenten ermöglichen. Die Anwesenheit der Bulk-Filamente könnte sowohl die diffusive Phase als auch die advektive Phase beeinflussen, was die Verteilung der Tumblingzeit entsprechend ändern könnte. Die Verteilung von Tumblingzeiten ist nach [41] aufgrund der Intermittenz des Systems nicht normal verteilt sondern besitzt einen algebraischen Abfall. Dieser ist das Resultat der Störung der regulären Rotationsbewegung im Scherfluss durch die Rotations-Diffusion. Für einen dünnen steifen Stab der Länge L_c ergibt sich dieses Verhalten durch die Langevin-Gleichung $\frac{d\phi}{dt} = \dot{\gamma} (\sin^2(\phi)) + F_B(t)$ für den Orientierungswinkel ϕ in einem einfachen Scherfluss mit Scherrate $\dot{\gamma}$ und der Kraft durch Brown'sche Fluktuationen $F_B(t)$. Die Brown'schen Fluktuationen $F_B(t)$ erfüllen dabei die Bedingung $\langle F_B(t) \rangle = 0$ und $\langle F_B(t_1) F_B(t_2) \rangle = 2D_{\text{rod}} \delta(t_1 - t_2)$. Addiert man ein zusätzliches harmonisches Potential $U_{\text{bulk}}(\phi) = k \cdot L_c^2 \sin^2 \phi$, welches den Stab in der metastabilen Lage um $\phi = 0$ stabilisiert, kann man den Effekt der sehr langen Verweildauern in der diffusiven Phase für verschlaufte Aktin-Filamente reproduzieren. Die Stärke des harmonischen Potentials wird durch den Parameter k festgelegt und kann so variiert werden, dass die Tumblingzeit-Verteilung sich mit zunehmender Potentialstärke verändert.

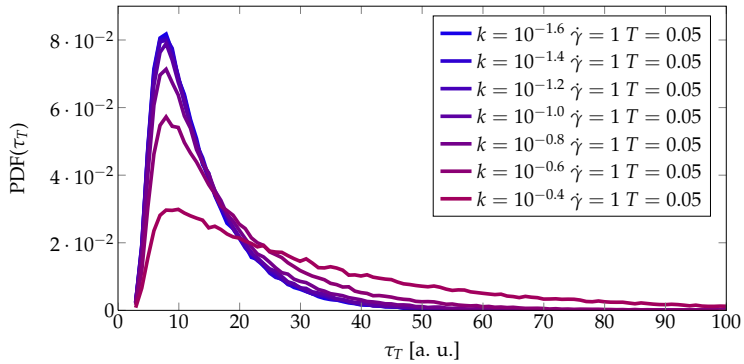


Abbildung 6.1 : Tumblingzeit-Verteilung $\text{PDF}(\tau_T)$ eines simulierten steifen Stabes im Scherfluss und einem harmonischen Potential, angegeben in willkürlichen Einheiten ([a. u.]) für die Tumblingzeit τ_T . Das harmonische Potential besitzt ein Minimum bei $\phi = 0$ und stabilisiert so die metastabile Phase. Mit zunehmender Potentialstärke (Parameter k) wird der Abfall der Verteilung zu längeren Zeiten verschoben.

Aus dem Vergleich solcher Parameterstudien mit gemessenen Daten lässt sich der mittlere Einfluss auf die advective und diffusive Phase identifizieren und in Relation zum Verhalten steifer Stäbe setzen.

Anhang

1 Herleitungen im Modell der Gauss'schen semiflexiblen Kette

Im Modell der Gauss'schen semiflexiblen Kette nach [12] werden die Ortskoordinaten der Kette zum Zeitpunkt t durch die kontinuierliche Raumkurve $\mathbf{r}(s, t)$ mit dem Konturparameter $s \in [-\frac{L_c}{2}; \frac{L_c}{2}]$ beschrieben. Diese Raumkurve erfüllt die Langevin-Gleichung

$$\gamma \frac{\partial}{\partial t} \chi(s, t) + \epsilon \frac{\partial^4}{\partial s^4} \mathbf{r}(s, t) - 2\nu \frac{\partial^2}{\partial s^2} \mathbf{r}(s, t) = \mathbf{f}(s, t) \quad (1)$$

mit den Langrange-Multiplikatoren ν, ϵ , dem Längen-Reibungskoeffizienten γ und der stochastischen Kraft $\mathbf{f}(s, t)$. Für die stochastische Kraft werden Gauß-verteilte Kräfte angenommen:

$$\langle f_i(s, t) \rangle = 0, \quad (2)$$

$$\langle f_i(s, t) f_j(s', t') \rangle = 2\gamma k_B T \delta_{ij} \delta(s - s') \delta(t - t') \quad \text{mit } i, j \in \{x, y, z\} \quad (3)$$

Die Raumkurve kann in Normalmoden $\mathbf{r}(s, t) = \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l(s) \chi_l(t)$ zerlegt werden. Für die zu den Eigenfunktionen $\psi_l(s)$ zugehörigen Amplituden $\chi_l(t)$ ergibt sich die Bedingung

$$\chi_l(t) = \frac{1}{\gamma} \int_{-\infty}^t dt' \exp\left(\frac{-t-t'}{\tau_l}\right) f_l(t'), \quad (4)$$

wobei sich $f_l(t')$ über $f(t) = \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l(s) f_l(t)$ definiert.

1.1 Korrelationsfunktionen

Damit ergibt sich für die Korrelationsfunktionen der Amplituden:

$$\langle \chi_{km}(t) \chi_{ln}(0) \rangle = \left\langle \left(\frac{1}{\gamma} \int_{-\infty}^t dt' \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_k}\right) f_{km}(t') \right) \left(\frac{1}{\gamma} \int_{-\infty}^0 dt'' \exp\left(-\frac{0-t''}{\tau_l}\right) f_{ln}(t'') \right) \right\rangle = \quad (5)$$

$$= \frac{1}{\gamma^2} \int_{-\infty}^t dt' \int_{-\infty}^0 dt'' \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_k}\right) \exp\left(\frac{t''}{\tau_l}\right) \langle f_{km}(t') f_{ln}(t'') \rangle = \quad (6)$$

$$= \frac{1}{\gamma^2} \int_{-\infty}^t dt' \int_{-\infty}^0 dt'' \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_k} + \frac{t''}{\tau_l}\right) \langle f_{km}(t') f_{ln}(t'') \rangle \quad (7)$$

Die stochastischen Kräfte müssen die Gleichung 3 erfüllen, womit sich

$$\langle \chi_{km}(t) \chi_{ln}(0) \rangle = \frac{1}{\gamma^2} \int_{-\infty}^t dt' \int_{-\infty}^0 dt'' \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_k} + \frac{t''}{\tau_l}\right) 2\gamma k_B T \delta_{kl} \delta_{mn} \delta(t' - t'') \quad (8)$$

$$\langle \chi_{lm}(t) \chi_{lm}(0) \rangle = \frac{2k_B T}{\gamma} \int_{-\infty}^t dt' \int_{-\infty}^0 dt'' \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_l} + \frac{t''}{\tau_l}\right) \delta(t' - t'') = \quad (9)$$

$$= \frac{2k_B T}{\gamma} \int_{-\infty}^t dt' \int_{-\infty}^0 dt'' \exp\left(-\frac{t}{\tau_l} + \frac{t'}{\tau_l} + \frac{t''}{\tau_l}\right) \delta(t' - t'') = \quad (10)$$

$$= \frac{2k_B T}{\gamma} \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \int_{-\infty}^0 dt' \exp\left(\frac{2t'}{\tau_l}\right) = \quad (11)$$

$$= \frac{k_B T \tau_l}{\gamma} \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \quad (12)$$

ergibt. Hierbei ist zu bemerken, dass in 11 das Integral über das Intervall $[0, t]$ wegen der Delta-Funktion verschwindet. Für das Skalarprodukt in \hat{d} Dimensionen ergibt sich folglich:

$$\langle \chi_k(t) \chi_l(0) \rangle = \frac{\hat{d} k_B T \tau_l}{\gamma} \delta_{kl} \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \quad (13)$$

Unter Berücksichtigung hydrodynamischer Effekte muss diese Gleichung jedoch zu

$$\langle \chi_k(t) \chi_l(0) \rangle = \frac{\hat{d} k_B T \tau_l}{\gamma} \delta_{kl} \exp\left(-\frac{t}{\tilde{\tau}_l}\right) \quad (14)$$

modifiziert werden (vgl. [25]).

1.2 End-zu-End-Vektor

Der End-zu-End-Vektor $\mathbf{R}_{ee}(t)$ ergibt sich durch die Symmetrie-Eigenschaften der Eigenfunktionen $\psi_l(s) = (-1)^l \psi_l(-s)$ zu

$$\mathbf{R}_{ee}(t) = \underbrace{\mathbf{r}(s = -\frac{L_c}{2}, t)}_{=: \mathbf{r}_a(t)} - \underbrace{\mathbf{r}(s = +\frac{L_c}{2}, t)}_{=: \mathbf{r}_e(t)} = \sum_{l=1,3,5,\dots}^{\infty} 2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right)\chi_l(t) \quad (15)$$

Die Mittlere quadratische Verschiebung von \mathbf{R}_{ee} ergibt sich über

$$\langle (\mathbf{R}_{ee}(t) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle = \quad (16)$$

$$= \langle (\mathbf{r}_a(t) - \mathbf{r}_e(t) - \mathbf{r}_a(0) + \mathbf{r}_e(0))^2 \rangle \quad (17)$$

$$\langle (\mathbf{r}_a(t) - \mathbf{r}_e(t) - \mathbf{r}_a(0) + \mathbf{r}_e(0)) \rangle = \quad (18)$$

$$= \langle (\mathbf{r}_a(t) - \mathbf{r}_e(t) - \mathbf{r}_a(0) + \mathbf{r}_e(0)) \cdot (\mathbf{r}_a(t) - \mathbf{r}_e(t) - \mathbf{r}_a(0) + \mathbf{r}_e(0)) \rangle = \quad (19)$$

$$= \langle \mathbf{r}_a^2(t) - \mathbf{r}_e(t)\mathbf{r}_a(t) - \mathbf{r}_a(0)\mathbf{r}_a(t) + \mathbf{r}_e(0)\mathbf{r}_a(t) - \mathbf{r}_e(t)\mathbf{r}_a(t) + \mathbf{r}_e^2(t) + \mathbf{r}_e(t)\mathbf{r}_a(0) - \mathbf{r}_e(t)\mathbf{r}_e(0) - \mathbf{r}_a(0)\mathbf{r}_a(t) + \mathbf{r}_a(0)\mathbf{r}_e(t) + \mathbf{r}_a^2(0) - \mathbf{r}_a(0)\mathbf{r}_e(0) + \mathbf{r}_e(0)\mathbf{r}_a(t) - \mathbf{r}_e(0)\mathbf{r}_e(t) - \mathbf{r}_e(0)\mathbf{r}_a(0) + \mathbf{r}_e^2(0) \rangle =$$

$$= \langle [\mathbf{r}_a^2(t) + \mathbf{r}_e^2(t) + \mathbf{r}_a^2(0) + \mathbf{r}_e^2(0)] \rangle + \quad (20)$$

$$- \langle 2[\mathbf{r}_e(t)\mathbf{r}_e(0) + \mathbf{r}_a(0)\mathbf{r}_a(t)] \rangle - \quad (21)$$

$$+ \langle 2[\mathbf{r}_e(0)\mathbf{r}_a(t) + \mathbf{r}_e(t)\mathbf{r}_a(0)] \rangle - \quad (22)$$

$$- \langle 2[\mathbf{r}_e(t)\mathbf{r}_a(t) + \mathbf{r}_e(0)\mathbf{r}_a(0)] \rangle \quad (23)$$

Die Terme der Gleichungszeile 20 ergeben nach folgendem Muster

$$\langle \mathbf{r}_e^2(t) \rangle = \left\langle \left(\sum_{l=0}^{\infty} \psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\chi_l(t) \right) \cdot \left(\sum_{l=0}^{\infty} \psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\chi_l(t) \right) \right\rangle = \quad (24)$$

$$= \left\langle \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right)\chi_l^2(t) \right\rangle + \left\langle \sum_{l \neq m}^{\infty} \psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\chi_l(t)\psi_m\left(\frac{-L_c}{2}\right)\chi_m(t) \right\rangle = \quad (25)$$

$$= \left\langle \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right)\chi_l^2(t) \right\rangle = \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \langle \chi_l^2(t) \rangle = \quad (26)$$

$$= \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \frac{\hat{d}k_B T \tau_l}{\gamma} = \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \tau_l \quad (27)$$

Mit der Dimensionalität \hat{d} . Analog ergeben sich die Terme der Gleichungszeile 21 zu:

$$\langle \mathbf{r}_e(t) \mathbf{r}_e(0) \rangle = \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \langle \chi_l(t) \chi_l(0) \rangle = \quad (28)$$

$$= \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \tau_l \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \quad (29)$$

Die Terme der Gleichungszeile 22 errechnen sich zu:

$$\langle \mathbf{r}_e(0) \mathbf{r}_a(t) \rangle = \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \langle \chi_l(t) \chi_l(0) \rangle = \quad (30)$$

$$= \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) = \quad (31)$$

$$= \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \quad (32)$$

Die Terme der Gleichungszeile 23 errechnen sich zu:

$$\langle \mathbf{r}_e(t) \mathbf{r}_a(t) \rangle = \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \langle \chi_l(t) \chi_l(0) \rangle = \quad (33)$$

$$= \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l \quad (34)$$

Einsetzen in Gleichung 20

$$\langle (\mathbf{R}_{ee}(t) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle = \quad (35)$$

$$= \left[\frac{4\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \tau_l \right] + \quad (36)$$

$$- 2 \left[\frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \tau_l \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) + \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l^2 \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \right] -$$

$$+ 2 \left[\frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) + \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \right] -$$

$$- 2 \left[\frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l + \frac{\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \psi_l \left(\frac{-L_c}{2} \right) \psi_l \left(\frac{L_c}{2} \right) \tau_l \right] =$$

$$= \frac{2\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \tau_l [\dots] \quad (37)$$

Der Inhalt der eckigen Klammer ergibt sich zu:

$$[\dots] = 2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) - \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right)\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) - \psi_l^2\left(\frac{L_c}{2}\right)\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) + \quad (38)$$

$$+ \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right)\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) + \psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right)\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) - \\ - \psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right) - \psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right) =$$

$$= \left[2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) - 2\psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right) \right] - \quad (39)$$

$$- \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right)\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) - \psi_l^2\left(\frac{L_c}{2}\right)\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) + \quad (40)$$

$$+ 2\psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right)\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) =$$

$$= \left[2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) - 2\psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right) \right] + \quad (41)$$

$$+ \left[-\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) - \psi_l^2\left(\frac{L_c}{2}\right) + 2\psi_l\left(\frac{-L_c}{2}\right)\psi_l\left(\frac{L_c}{2}\right) \right]\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right)$$

$$(42)$$

Mit den Symmetrie-Eigenschaften $\psi_l(s) = (-1)^l \psi_l(-s)$ der Moden erhält man

$$[\dots] = \left[2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) - 2(-1)^l \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \right] + \quad (43)$$

$$+ \left[-2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) + 2(-1)^l \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \right]\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) =$$

$$= 2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \left\{ \left[1 - (-1)^l \right] + \left[-1 + (-1)^l \right]\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \right\} = \quad (44)$$

$$= 2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \left\{ \left[1 - (-1)^l \right] - \left[1 - (-1)^l \right]\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \right\} \quad (45)$$

Somit verschwindet die eckige Klammer für gerade l und man erhält:

$$\langle (\mathbf{R}_{ee}(t) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle = \frac{2\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=0}^{\infty} \tau_l \left[2\psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \left\{ \left[1 - (-1)^l \right] - \left[1 - (-1)^l \right]\exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \right\} \right] = \quad (46)$$

$$= \frac{8\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2\left(\frac{-L_c}{2}\right) \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \right] \quad (47)$$

Somit ergibt sich für große Zeiten t

$$\langle (\mathbf{R}_{ee}(t \rightarrow \infty) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle = \frac{8\hat{d}k_B T}{\gamma} \sum_{l=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right). \quad (48)$$

Das normalisierte MSD des End-zu-End-Vektors verhält sich entsprechend zu

$$\frac{\langle (\mathbf{R}_{ee}(t) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle}{1/2 \lim_{t \rightarrow \infty} \langle (\mathbf{R}_{ee}(t) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle} = \frac{\sum_{l=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right) \right]}{1/2 \sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_n \psi_n^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right)} = \quad (49)$$

$$= 2 \left(1 - \frac{\sum_{l=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right)}{\sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_n \psi_n^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right)} \right) = \quad (50)$$

$$2 \left(1 - \frac{8\hat{d}k_B T}{\gamma} \frac{\tau_1 \psi_1^2}{2 \left(R_{ee}^{eq} \right)^2} \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) - \frac{\sum_{l=3,5,7,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right)}{\sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_n \psi_n^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right)} \right) = \quad (51)$$

$$= 2 \left(1 - \frac{4\hat{d}k_B T}{\gamma} \frac{\tau_1 \psi_1^2}{\left(R_{ee}^{eq} \right)^2} \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) - \frac{\sum_{l=3,5,7,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right)}{\sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_n \psi_n^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right)} \right) \quad (52)$$

Analog ergibt sich mit Berücksichtigung von Hydrodynamischen Wechselwirkungen:

$$\frac{\langle (\mathbf{R}_{ee}(t) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle}{1/2 \lim_{t \rightarrow \infty} \langle (\mathbf{R}_{ee}(t) - \mathbf{R}_{ee}(0))^2 \rangle} = \quad (53)$$

$$= 2 \left(1 - \frac{4\hat{d}k_B T}{\gamma} \frac{\tau_1 \psi_1^2}{\left(R_{ee}^{eq} \right)^2} \exp\left(-\frac{t}{\tilde{\tau}_1}\right) - \frac{\sum_{l=3,5,7,\dots}^{\infty} \tau_l \psi_l^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right) \exp\left(-\frac{t}{\tau_l}\right)}{\sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \tau_n \psi_n^2 \left(\frac{-L_c}{2} \right)} \right)$$

2 Herleitung des Stadionbahn-Radius

Es wird das Koordinatensystem der Stadionbahn x^* , y^* verwendet, welche aus zwei gegenüberliegenden »U«s besteht. Innerhalb dieses Systems wird die Konformation des Filaments bei $y^* = \pm R_U$ mit geraden, zum Fluss ausgerichteten Teilstücken und auf dem Halbkreis gekrümmten Teilstücken angenähert (siehe Abb. 4.10).

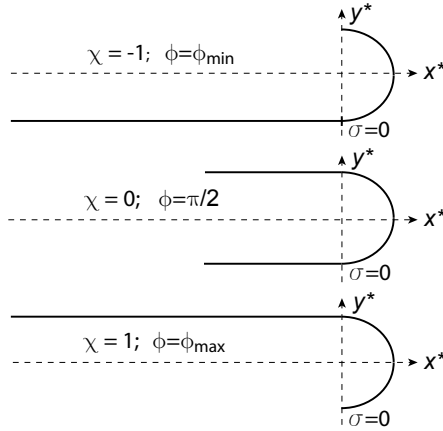


Abbildung 2 : Ausgezeichnete Punkte der Filamentkonformation werden durch die Hilfskoordinate χ und σ bezeichnet.

Als Grenze der Bereiche schwacher bzw. starker Biegung wird der Winkel ϕ_{\min} zwischen dem End-zu-End-Vektor und Flussrichtung verwendet, bei dem das Anfangssegment des Filaments das »U« komplett durchlaufen hat (siehe Abb. 2). Zur Vereinfachung werden zweckmäßigere Koordinaten eingeführt: Im stark gebogenen Regime ersetzt $\chi \in [-1, 1]$ den Winkel ϕ . $\epsilon_{\parallel} \in [0, 1]$ beschreibt den Anteil der geraden Teilstücke in Relation zur Gesamtlänge und die Länge der gesamten ausgerichteten Teilstücke $L_{\parallel} \equiv \epsilon_{\parallel} L_c$. Analytisch wird dies durch folgende Relation erreicht:

$$\chi \equiv -2R_U/L_{\parallel} \tan \phi. \quad (54)$$

Berücksichtigt man die relative Bewegung des Schwerpunkts im Stadionsystem, so erhält man für die relative Flussgeschwindigkeit am Ort des Segments s

$$\mathbf{v}^{\text{rel}}(s) = \mathbf{v}^{\text{fluid}}(s) - \mathbf{v}(s) = \begin{pmatrix} (\dot{\gamma}R_U - v)(\cos \alpha + \epsilon_{\parallel}\chi) \\ -v(\sin \alpha - 2R_U/L_c) \end{pmatrix}, \quad (55)$$

wobei hierbei die noch unbestimmte Bahngeschwindigkeit $v(\chi)$ verwendet wurde. Unter der Annahme, dass das Filament beim Verschwinden des Integrals der tangentialen Komponenten der Relativgeschwindigkeit nicht beschleunigt, kann man die Bahngeschwindigkeit zu

$$v(\chi) = \dot{\gamma}R_U \left(\frac{1 + \epsilon_{\parallel} - 2\epsilon_{\parallel}^2\chi^2}{2(1 - \epsilon_{\parallel}^2\chi^2) - 8(1 - \epsilon_{\parallel})^2/\pi^2} \right). \quad (56)$$

berechnen.

Um den Radius des Halbkreises abzuschätzen, werden die Reibungskräfte im Teilstück des Halbkreises vernachlässigt ($s \in [0, \pi R_U]$) und nur die Reibungskräfte $F_{\text{lead}}, F_{\text{rear}}$ in den ausgerichteten Teilstücken mit Länge L_{lead} und L_{rear} berücksichtigt. Diese Näherung ist für lange Filamente gültig solange $(1 - |\chi|) \gg \pi R_U / L_c$. Daher ist es wichtig die maximale Krümmung κ_{max} als Abschätzung für R_U zu erhalten ($R_U \approx \kappa_{\text{max}}^{-1}$).

Da angenommen wird, dass das Filament die U-förmige Bahn des Filaments im stark gebogenen Regime beibehält, werden die Reibungskräfte in y -Richtung nicht berücksichtigt. Dies ist gerechtfertigt, da die Reibungskräfte in y -Richtung insgesamt nur die Stadionbahn "formen". Im Gegensatz dazu berechnen sich die Reibungskräfte in x -Richtung, mit dem das vordere Filamentsegment am Punkt $s = \pi R_U$ »zieht« bzw. das hintere Filamentsegment am Punkt $s = 0$ schiebt zu

$$\begin{aligned}
 F_{\text{lead}} &= c_{\parallel} L_{\text{lead}} v_x^{\text{rel}}(\alpha = \pi) \\
 &= -\frac{\pi}{4} c_{\parallel} \dot{\gamma} R_U^2 \epsilon_{\parallel} \left(\frac{(1 + \chi)(1 - \epsilon_{\parallel} \chi)(1 - 8R_U / \pi L_c)}{1 - \epsilon_{\parallel}^2 \chi^2 - (2R_U / L_c)^2} \right), \\
 F_{\text{rear}} &= c_{\parallel} L_{\text{rear}} v_x^{\text{rel}}(\alpha = 0) \\
 &= -\frac{(1 - \chi)(1 + \epsilon_{\parallel} \chi)}{(1 + \chi)(1 - \epsilon_{\parallel} \chi)} F_{\text{lead}}. \quad (57)
 \end{aligned}$$

Die y -Koordinate des Punktes maximaler Biegung y_b^* im Stadion System berechnet sich durch das Gleichsetzen der Biege-Momente $M_{\text{lead}} = M_{\text{rear}}$, welche durch die Produkte der Biegekräfte $F_{\text{lead}}, F_{\text{rear}}$ und Hebelarme $(R_U - y_b^*)$ and $(-R_U - y_b^*)$ gegeben sind, zu:

$$F_{\text{lead}}(R_U - y_b^*) = F_{\text{rear}}(-R_U - y_b^*) \quad (58)$$

was zu

$$y_b^* = \left(\frac{\pi \chi}{1 - \chi^2} \right) \frac{R_U^2}{L_c} \quad (59)$$

führt.

Die Koordinate des Punktes maximaler Krümmung s_b mit dem lokalen Tangentenwinkel α_b ist durch $s_b = R_U \alpha_b = R_U \cos^{-1}(-y_b^* / R_U)$ gegeben. Hiermit berechnet sich das Biegemoment M_b an der Stelle s_b so,

$$M_b = F_{\text{lead}}(R_U - y_b^*) = -\frac{\pi}{4} c_{\parallel} \dot{\gamma} R_U^3 c^{-4}, \quad (60)$$

$$c \equiv \left(\frac{(1 - \epsilon_{\parallel} \chi^2)[(1 - \epsilon_{\parallel}^2 \chi^2)\pi^2 - 4(1 - \epsilon_{\parallel})^2]}{\epsilon_{\parallel}(1 - \chi^2)(1 - \epsilon_{\parallel}^2 \chi^2)(\pi^2 - 8 + 8\epsilon_{\parallel})} \right)^{1/4} \quad (61)$$

dass der Koeffizient $c \rightarrow \infty$ für lange Filamente $\epsilon_{\parallel} \rightarrow 1$ ist. Mit $\frac{1}{R_U} = -\frac{M_b}{k_B T L_p}$ nach [6] ergibt sich für lange Filamente ($\pi R_U / L_c \ll 1$) aus Gleichung 4.4 und 60 der Radius R_U :

$$R_U = \left(\frac{4 k_B T L_p}{\pi c_{\parallel} \dot{\gamma}} \right)^{\frac{1}{4}} \quad (62)$$

Für diesen Fall vereinfacht sich auch die Bahngeschwindigkeit und man erhält

$$v = \dot{\gamma} R_U \quad (63)$$

mit $c = 1$. Korrekturen zu dieser Gleichung ergeben sich numerisch aus Gleichung 4.5 mit $c = c(R_U)$ aus Gleichung 60. Für lange Filamente ist der Radius der U-förmigen Bahn näherungsweise konstant.

3 Herleitung der Verteilungsfunktion des Orientierungswinkels

Die Fokker-Planck-Gleichung für den Orientierungswinkel ϕ steifen Stabes in einem einfachen Scherfluss mit der Scherrate γ ergibt sich zu

$$\frac{dp(\phi)}{dt} = \frac{d(\omega(\phi)p(\phi))}{d\phi} + D_r \frac{d^2 p(\phi)}{d\phi^2}, \quad (64)$$

wobei $\omega = \dot{\gamma}(\sin^2 \phi + \kappa_J \cos^2 \phi)$ den Driftterm, κ_J das Durchmesser zu Längen Verhältnis, $p(\phi)$ die Verteilungsfunktion und D_r den Rotations-Diffusions-Koeffizienten bezeichnet. Es wird ein Fließgleichgewicht angenommen, bei dem die Verteilungsfunktion des Orientierungswinkels zeitunabhängig ist.

$$\frac{dp(\phi)}{dt} = 0 \quad (65)$$

Womit sich die stationäre Fokker-Planck-Gleichung

$$D_r \frac{d^2}{d\phi^2} p(\phi) + \frac{d}{d\phi} (\omega(\phi)p(\phi)) = 0 \quad (66)$$

$$\frac{d^2}{d\phi^2} p(\phi) + \frac{1}{D_r} \frac{d}{d\phi} (\omega(\phi)p(\phi)) = 0 \quad (67)$$

$$\frac{d}{d\phi} p(\phi) + \frac{\omega(\phi)}{D_r} p(\phi) = C \quad (68)$$

mit dem konstanten Parameter C ergibt. Diese Differentialgleichung kann man mit der Methode der Variation der Lösungen lösen. Dafür wird zunächst die homogene Differentialgleichung gelöst:

$$\frac{d}{d\phi} p(\phi) + \frac{\omega(\phi)}{D_r} p(\phi) = 0 \quad (69)$$

Mit $\Omega = -\frac{1}{D_r} \int_{\phi_0}^{\phi} \omega(\phi) d\phi$ und dem konstanten Vorfaktor A löst $p_h(\phi)$ die homogene Differentialgleichung.

$$p_h(\phi) = A \exp(\Omega(\phi)) \quad (70)$$

Die inhomogene Differentialgleichung kann nun von Der Vorfaktor A variiert nun mit ϕ und die die stationäre Fokker-Plank-Gleichung wird von p_{stat} gelöst.

$$p_{\text{stat}}(\phi) = A(\phi) \exp(\Omega(\phi)) \quad (71)$$

Durch Einsetzen von Gleichung 71 in Gleichung 68 erhält man

$$\frac{d}{d\phi} [A(\phi)e^{\Omega(\phi)}] + \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} = C \quad (72)$$

$$\left[e^{\Omega(\phi)} \cdot \frac{d}{d\phi} A(\phi) + A(\phi) \cdot \frac{d}{d\phi} e^{\Omega(\phi)} \right] + \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} = C \quad (73)$$

$$\left[e^{\Omega(\phi)} \cdot \frac{d}{d\phi} A(\phi) + A(\phi)e^{\Omega(\phi)} \cdot \frac{d}{d\phi} \Omega(\phi) \right] + \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} = C \quad (74)$$

$$\left[e^{\Omega(\phi)} \cdot \frac{d}{d\phi} A(\phi) + A(\phi)e^{\Omega(\phi)} \cdot \left(-\frac{\omega(\phi)}{D_r} \right) \right] + \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} = C \quad (75)$$

$$\left[e^{\Omega(\phi)} \cdot \frac{d}{d\phi} A(\phi) - \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} \right] + \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} = C \quad (76)$$

$$e^{\Omega(\phi)} \cdot \frac{d}{d\phi} A(\phi) - \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} + \frac{\omega(\phi)}{D_r} A(\phi)e^{\Omega(\phi)} = C \quad (77)$$

$$e^{\Omega(\phi)} \cdot \frac{d}{d\phi} A(\phi) = C \quad (78)$$

Gleichung 78 ist gültig, falls

$$\frac{d}{d\phi} A(\phi) = C \exp(-\Omega(\phi)). \quad (79)$$

und

$$\Omega = -\frac{1}{2D_r} \int_{\phi_0}^{\phi} \omega(\phi) d\phi = -\frac{\dot{\gamma}}{2D_r} \left(\int_{\phi_0}^{\phi} \sin^2 \phi d\phi + \kappa_J^2 \int_{\phi_0}^{\phi} \cos^2 \phi d\phi \right) = \quad (80)$$

$$= -\frac{\dot{\gamma}}{2D_r} \left(\frac{1}{2} \phi - \frac{1}{4} \sin(2\phi) + \kappa_J^2 \left[\frac{1}{2} \phi + \frac{1}{4} \sin(2\phi) \right] \right) + C_2 = \quad (81)$$

$$= -\frac{\dot{\gamma}}{2D_r} \left(\frac{\kappa_J^2 + 1}{2} \phi + \frac{\kappa_J^2 - 1}{4} \sin(2\phi) \right) + C_2 = \quad (82)$$

$$= -\frac{\dot{\gamma}}{2D_r} \left(\frac{\kappa_J^2 + 1}{2} \phi + \frac{\kappa_J^2 - 1}{4} \sin(2\phi) \right) + C_2 = \quad (83)$$

$$= - \left(\underbrace{\frac{\dot{\gamma}(\kappa_J^2 + 1)}{4D_r}}_a \phi + \underbrace{\frac{\dot{\gamma}(\kappa_J^2 - 1)}{8D_r}}_b \sin(2\phi) \right) + C_2 = \quad (84)$$

$$- (a\phi + b \sin(2\phi)) + C_2 \quad (85)$$

Einsetzen in 79 liefert

$$\frac{d}{d\phi} A(\phi) = C \exp(a\phi + b \sin(2\phi) + C_2) = \quad (86)$$

$$\stackrel{:=C}{=} \underbrace{C e^{C_2}}_{C'} \exp(a\phi + b \sin(2\phi)) = \quad (87)$$

$$= C \exp(a\phi + b \sin(2\phi)). \quad (88)$$

Die Lösung von Gleichung 88 ist

$$A(\phi) = C \int_{\phi_0}^{\phi} \exp(a\phi + b \sin(2\phi)) d\phi. \quad (89)$$

Das Integral ist nicht analytisch lösbar, und die Lösung zu Gleichung 68 lässt sich ausdrücken als

$$p_{\text{stat}}(\phi) = \left(C \int_{\phi_0}^{\phi} \exp(a\phi + b \sin(2\phi)) d\phi \right) \exp(\Omega(\phi)) = \quad (90)$$

$$= \left(C \int_{\phi_0}^{\phi} \exp(a\phi + b \sin(2\phi)) d\phi \right) \cdot \exp(-(a\phi + b \sin(2\phi)) + C_2) = \quad (91)$$

$$= \left(\underbrace{C e^{C_2}}_{:=C} \int_{\phi_0}^{\phi} \exp(a\phi + b \sin(2\phi)) d\phi \right) \cdot \exp(-(a\phi + b \sin(2\phi))) = \quad (92)$$

$$= C \left(\int_{\phi_0}^{\phi} \exp(a\phi + b \sin(2\phi)) d\phi \right) \cdot \exp(-(a\phi + b \sin(2\phi))) \quad (93)$$

mit $a = \frac{\dot{\gamma}(\kappa_j^2+1)}{2D_r}$ und $b = \frac{\dot{\gamma}(\kappa_j^2-1)}{4D_r}$. Der Vorfaktor C kann durch die Normalisierungsbedingung $\int p(\phi)d\phi = 1$ erhalten werden. Um eine periodische Lösung zu erhalten muss ϕ_0 entsprechend klein gewählt werden.

Literaturverzeichnis

- [1] SCHROEDER, C.M. ; TEIXEIRA, R. E. ; SHAQFEH, E. S. G. ; CHU, S.: Characteristic periodic motion of polymers in shear flow. In: *Phys. Rev. Lett.* 95 (2005), Jul, Nr. 1, 018301
- [2] SMITH, D. E. ; BABCOCK, H. P. ; CHU, S.: Single-polymer dynamics in steady shear flow. In: *Science* 283 (1999), Mar, Nr. 5408, 1724–1727
- [3] TEIXEIRA, R. E. ; BABCOCK, H. P. ; SHAQFEH, E. S. G. ; CHU, S.: Shear Thinning and Tumbling Dynamics of Single Polymers in the Flow-Gradient Plane. In: *Macromolecules* 38 (2005), 581
- [4] STEINHAUSER, D. ; KÖSTER, S. ; PFOHL, T.: Mobility Gradient Induces Cross-Streamline Migration of Semiflexible Polymers. In: *ACS Macro Letters* 0 (2012), Nr. 0, 541-545
- [5] GRAZI, E.: What is the diameter of the actin filament? In: *FEBS Lett* 405 (1997), Apr, Nr. 3, 249–252
- [6] HOWARD, J.: *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*. Palgrave Macmillan, 2005
- [7] COOPER, J. A.: Effects of cytochalasin and phalloidin on actin. In: *J Cell Biol* 105 (1987), Oct, Nr. 4, 1473–1478
- [8] SPUDICH, J. A. ; WATT, S.: The regulation of rabbit skeletal muscle contraction. I. Biochemical studies of the interaction of the tropomyosin-troponin complex with actin and the proteolytic fragments of myosin. In: *J Biol Chem* 246 (1971), Aug, Nr. 15, S. 4866–4871
- [9] DOI, M. ; EDWARDS, S.F.: *The Theory of Polymer Dynamics*. Oxford University Press, 1986
- [10] BOAL, D.: *Mechanics of the cell*. Cambridge university press, 2002
- [11] BENOIT, H. ; DOTY, P.: Light Scattering from Non-Gaussian Chains. In: *J. Phys. Chem.* 57 (1953), September, Nr. 9, 958–963. – ISSN 0022–3654
- [12] HARNAU, L. ; WINKLER, R. G. ; REINEKER, P.: Dynamic structure factor of semiflexible macromolecules in dilute solution. In: *J. Chem. Phys.* 104 (1996), Nr. 16, 6355-6368
- [13] McDONALD, J. C. ; DUFFY, D. C. ; ANDERSON, J. R. ; CHIU, D. T. ; WU, H. ; SCHUELLER, O. J. ; WHITESIDES, G. M.: Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). In: *Electrophoresis* 21 (2000), Jan, Nr. 1, 27–40

- [14] CHUANG, Y.-J. ; TSENG, F.-G. ; LIN, W.-K.: Reduction of diffraction effect of UV exposure on SU-8 negative thick photoresist by air gap elimination. In: *Microsystem Technologies* 8 (2002), 308-313. – ISSN 0946-7076. – 10.1007/s00542-002-0176-8
- [15] RASNIK, I. ; MCKINNEY, S. A. ; HA, T.: Nonblinking and long-lasting single-molecule fluorescence imaging. In: *Nat Methods* 3 (2006), Nov, Nr. 11, 891-893
- [16] TYCON, M. A. ; DIAL, C. F. ; FAISON, K. ; MELVIN, W. ; FECKO, C. J.: Quantification of dye-mediated photodamage during single-molecule DNA imaging. In: *Anal Biochem* 426 (2012), Jul, Nr. 1, 13-21
- [17] MERKEL, T. C. ; BONDAR, V. I. ; NAGAI, K. ; FREEMAN, B. D. ; PINNAU, I.: Gas sorption, diffusion, and permeation in poly(dimethylsiloxane). In: *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 38 (2000), Nr. 3, 415-434. – ISSN 1099-0488
- [18] LEMKE, E. A. ; GAMBIN, Y. ; VANDELINDER, V. ; BRUSTAD, E. M. ; LIU, H.-W. ; SCHULTZ, P. G. ; GROISMAN, A. ; DENIZ, A. A.: Microfluidic Device for Single-Molecule Experiments with Enhanced Photostability. In: *Journal of the American Chemical Society* 131 (2009), Nr. 38, 13610-13612. – PMID: 19772358
- [19] STONE, H. A.: Introduction to Fluid Dynamics for Microfluidic Flows. In: LEE, Hakho (Hrsg.) ; WESTERVELT, RobertM. (Hrsg.) ; HAM, Donhee (Hrsg.): *CMOS Biotechnology*. Springer US, 2007 (Series on Integrated Circuits and Systems). – ISBN 978-0-387-36836-8, S. 5-30
- [20] SCHILLING, J. ; SACKMANN, E. ; BAUSCH, A. R.: Digital imaging processing for biophysical applications. In: *Review of Scientific Instruments* 75 (2004), S. 2822-2827
- [21] BUADES, A. ; COLL, B. ; MOREL, J.-M.: Non-Local Means Denoising. In: *Image Processing On Line* 2011 (2011)
- [22] MARKO, J. F. ; SIGGIA, E. D.: Stretching DNA. In: *Macromolecules* 28 (1995), Nr. 26, 8759-8770
- [23] GITES, F. ; MICKY, B. ; NETTLETON, J. ; HOWARD, J.: Flexural rigidity of microtubules and actin filaments measured from thermal fluctuations in shape. In: *J Cell Biol* 120 (1993), Feb, Nr. 4, 923-934
- [24] JANMEY, P. A. ; PEETERMANS, J. ; ZANER, K. S. ; STOSSEL, T. P. ; TANAKA, T.: Structure and mobility of actin filaments as measured by quasielastic light scattering, viscometry, and electron microscopy. In: *J Biol Chem* 261 (1986), Jun, Nr. 18, S. 8357-8362
- [25] WINKLER, R.G.: Diffusion and segmental dynamics of rodlike molecules by fluorescence correlation spectroscopy. In: *The Journal of Chemical Physics* 127 (2007), Nr. 5, 054904
- [26] KANTSLER, V. ; GOLDSTEIN, R. E.: Fluctuations, dynamics, and the stretch-coil transition of single actin filaments in extensional flows. In: *Phys Rev Lett* 108 (2012), Jan, Nr. 3, S. 038103

- [27] DHONT, J.K. G. ; BRIELS, W. J.: Rod-Like Brownian Particles in Shear Flow. In: *Soft Matter*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. – ISSN 9783527617067, S. 147–216
- [28] ROUSE, P. E.: A Theory of the Linear Viscoelastic Properties of Dilute Solutions of Coiling Polymers. In: *The Journal of Chemical Physics* 21 (1953), Nr. 7, 1272-1280
- [29] RUBINSTEIN, M. ; COLBY, R.: *Polymer Physics*. Oxford, 2003
- [30] HARNAU, L. ; WINKLER, R. G. ; REINEKER, P.: Dynamic properties of molecular chains with variable stiffness. In: *The Journal of Chemical Physics* 102 (1995), Nr. 19, 7750-7757
- [31] ARAGON, Sergio R. ; PECORA, R.: Dynamics of wormlike chains. In: *Macromolecules* 18 (1985), Nr. 10, 1868-1875
- [32] GOFF, L. L. ; HALLATSCHKEK, O. ; FREY, E. ; AMBLARD, F.: Tracer studies on f-actin fluctuations. In: *Phys Rev Lett* 89 (2002), Dec, Nr. 25, 258101
- [33] HUNT, A. J. ; GITTES, F. ; HOWARD, J.: The force exerted by a single kinesin molecule against a viscous load. In: *Biophys J* 67 (1994), Aug, Nr. 2, 766–781
- [34] KRÖGER, M.: Simple models for complex nonequilibrium fluids. In: *Physics Reports* 390 (2004), Nr. 6, 453 - 551. – ISSN 0370–1573
- [35] HUANG, C.-C. ; SUTMANN, G. ; GOMPPER, G. ; WINKLER, R. G.: Tumbling of polymers in semidilute solution under shear flow. In: *EPL (Europhysics Letters)* 93 (2011), Nr. 5, 54004
- [36] DOYLE, P. S. ; LADOUX, B. ; VIOVY, J. L.: Dynamics of a tethered polymer in shear flow. In: *Phys Rev Lett* 84 (2000), May, Nr. 20, S. 4769–4772
- [37] LEE, J. S. ; SHAQFEH, E. S. G. ; MULLER, S. J.: Dynamics of DNA tumbling in shear to rotational mixed flows: pathways and periods. In: *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 75 (2007), Apr, Nr. 4 Pt 1, 040802
- [38] HUR, J. S. ; SHAQFEH, E. S. G. ; LARSON, R. G.: Brownian dynamics simulations of single DNA molecules in shear flow. In: *Journal of Rheology* 44 (2000), Nr. 4, 713-742
- [39] AUST, C. ; HESS, S. ; KROEGER, M.: Rotation and Deformation of a Finitely Extendable Flexible Polymer Molecule in a Steady Shear Flow. In: *Macromolecules* 35 (2002), Nr. 22, 8621-8630
- [40] SCHROEDER, C. M. ; TEIXEIRA, R. E. ; SHAQFEH, E. S. G. ; CHU, S.: Dynamics of DNA in the Flow Gradient Plane of Steady Shear Flow Observations and Simulations. In: *Macromolecules* 38 (2005), Nr. 5, 1967-1978
- [41] GERASHCHENKO, S. ; STEINBERG, V.: Statistics of tumbling of a single polymer molecule in shear flow. In: *Phys Rev Lett* 96 (2006), Jan, Nr. 3, 038304
- [42] CHERTKOV, M. ; KOLOKOLOV, I. ; LEBEDEV, V. ; TURITSYN, K.: Polymer statistics in a random flow with mean shear. In: *Journal of Fluid Mechanics* 531 (2005), S. 251–260

- [43] PULIAFITO, A. ; TURITSYN, K.: Numerical study of polymer tumbling in linear shear flows. In: *Physica D: Nonlinear Phenomena* 211 (2005), Nr. 1-2, 9 - 22. – ISSN 0167–2789
- [44] CELANI, A. ; PULIAFITO, A. ; TURITSYN, K.: Polymers in linear shear flow: A numerical study. In: *EPL (Europhysics Letters)* 70 (2005), Nr. 4, 464
- [45] WINKLER, R. G.: Semiflexible polymers in shear flow. In: *Phys Rev Lett* 97 (2006), Sep, Nr. 12, 128301
- [46] WINKLER, R. G.: Conformational and rheological properties of semiflexible polymers in shear flow. In: *J. Chem. Phys.* 133 (2010), Oct, Nr. 16, 164905
- [47] MUNK, T. ; HALLATSCHKE, O. ; WIGGINS, C. H. ; FREY, E.: Dynamics of semiflexible polymers in a flow field. In: *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 74 (2006), Oct, Nr. 4 Pt 1, 041911
- [48] STEINHAUSER, D.: *Actin Filaments and Bundles in Flow*, Georg-August-Universität Göttingen, Diss., 2008
- [49] R.CHELAKKOT ; WINKLER, R. G. ; GOMPPER, G.: Migration of semiflexible polymers in microcapillary flow. In: *Europhys. Lett.* 91 (2010), Nr. 1, 14001
- [50] CHELAKKOT, R. ; WINKLER, R. G. ; GOMPPER, G.: Semiflexible polymer conformation, distribution and migration in microcapillary flows. In: *J Phys Condens Matter* 23 (2011), May, Nr. 18, 184117
- [51] KRÖGER, M. ; HÜTTER, M.: Symbolic computation of the phoretic acceleration of convex particles suspended in a non-uniform gas. In: *Comput. Phys. Commun.* 175 (2006), S. 650–664
- [52] KRÖGER, M. ; HÜTTER, M.: Unifying kinetic approach to phoretic forces and torques for moving and rotating convex particles. In: *J. Chem. Phys.* 125 (2006), S. 044105
- [53] HARASIM, M. ; WUNDERLICH, B. ; PELEG, O. ; KRÖGER, M. ; BAUSCH, A.: Direct Observation of the Dynamics of Semiflexible Polymers in Shear Flow. In: *Phys. Rev. Lett.* 110 (2013), 108302
- [54] WUNDERLICH, B.: *Complex Microfluidics*, TUM, Diss., 2013
- [55] JEFFERY, G. B.: The Motion of Ellipsoidal Particles Immersed in a Viscous Fluid. In: *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character* 102 (1922), November, Nr. 715, 161–179. – ISSN 09501207
- [56] KOBAYASHI, H ; YAMAMOTO, R: Tumbling motion of a single chain in shear flow: a crossover from Brownian to non-Brownian behavior. In: *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 81 (2010), April, Nr. 4 Pt 1, 041807–
- [57] CHANDRAN, P. L. ; MOFRAD, M. R K.: Rods-on-string idealization captures semiflexible filament dynamics. In: *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 79 (2009), Jan, Nr. 1 Pt 1, 011906

- [58] HONERKAMP, J.: *Stochastic dynamical systems: Concepts, numerical methods, data analysis*. Wiley-VCH, 1994
- [59] DALAL, I. S. ; HODA, N. ; LARSON, R. G.: Multiple regimes of deformation in shearing flow of isolated polymers. In: *Journal of Rheology* 56 (2012), Nr. 2, 305-332
- [60] WILHELM, J. ; FREY, E.: Radial Distribution Function of Semiflexible Polymers. In: *Phys Rev Lett* 77 (1996), Sep, Nr. 12, S. 2581-2584
- [61] DEGENNES, P. G.: Reptation of a polymer chain in presence of fixed obstacles. In: *Journal of Chemical Physics* 55 (1971), S. 572-579
- [62] BAIG, V. G. C. and Mavrantzas M. C. and Mavrantzas ; KRÖGER, M.: Flow Effects on Melt Structure and Entanglement Network of Linear Polymers: Results from a Nonequilibrium Molecular Dynamics Simulation Study of a Polyethylene Melt in Steady Shear. In: *Macromolecules* 43 (2010), Nr. 16, 6886-6902
- [63] TEIXEIRA, R. E. ; DAMBAL, A. K. ; RICHTER, D. H. ; SHAQFEH, E. S. G. ; CHU, S.: The Individualistic Dynamics of Entangled DNA in Solution. In: *Macromolecules* 40 (2007), Nr. 7, 2461-2476
- [64] JOSE, P. P. ; SZAMEL, G.: Structure of a semidilute polymer solution under steady shear. In: *J Chem Phys* 127 (2007), Sep, Nr. 11, 114905
- [65] JOSE, P. P. ; SZAMEL, G.: Single-chain dynamics in a semidilute polymer solution under steady shear. In: *J Chem Phys* 128 (2008), Jun, Nr. 22, 224910
- [66] HUANG, C.-C. ; WINKLER, R. G. ; SUTMANN, G. ; GOMPPER, G.: Semidilute Polymer Solutions at Equilibrium and under Shear Flow. In: *Macromolecules* 43 (2010), Nr. 23, 10107-10116
- [67] HINNER, B. ; TEMPEL, M. ; SACKMANN, E. ; KROY, K. ; FREY, E.: Entanglement, Elasticity, and Viscous Relaxation of Actin Solutions. In: *Phys. Rev. Lett.* 81 (1998), Sep, 2614-2617
- [68] ZELLER, F.: *Individuelle Dynamik von verschlauften Aktinfilamenten im Scherfluss*. Lehrstuhl fuer Biophysik E27, Jul 2011
- [69] KASZA, K. E. ; BROEDERSZ, C. P. ; KOENDERINK, G. H. ; LIN, Y. C. ; MESSNER, W. ; MILLMAN, E. A. ; NAKAMURA, F. ; STOSSEL, T. P. ; MACKINTOSH, F. C. ; WEITZ, D. A.: Actin filament length tunes elasticity of flexibly cross-linked actin networks. In: *Biophys. J.* 99 (2010), Aug, Nr. 4, 1091-1100
- [70] BURKHARDT, T. W. ; YANG, Y. ; GOMPPER, G.: Fluctuations of a long, semiflexible polymer in a narrow channel. In: *PHYSICAL REVIEW E* 82 (2010), 041801
- [71] CHOU, H.-P. ; SPENCE, C. ; SCHERER, A. ; QUAKE, S.: A microfabricated device for sizing and sorting DNA molecules. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96 (1999), Nr. 1, 11-13
- [72] CRAIGHEAD, H.: Future lab-on-a-chip technologies for interrogating individual molecules. In: *Nature* 442 (2006), Jul, Nr. 7101, 387-393

- [73] NEELY, R. K. ; DEEN, J. ; HOFKENS, J.: Optical mapping of DNA: single-molecule-based methods for mapping genomes. In: *Biopolymers* 95 (2011), May, Nr. 5, 298–311
- [74] SIDOROVA, J. M. ; LI, N. ; SCHWARTZ, D. C. ; FOLCH, A. I. ; MONNAT, R. J.: Microfluidic-assisted analysis of replicating DNA molecules. In: *Nat Protoc* 4 (2009), Nr. 6, 849–861
- [75] SCHMOLLER, K. M. ; FERNÁNDEZ, P. ; AREVALO, R. C. ; BLAIR, D. L. ; BAUSCH, A. R.: Cyclic hardening in bundled actin networks. In: *Nat Commun* 134 (2010)

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Auch möchte ich denen danken, die die Arbeit im Lehrstuhl zu einer schönen Zeit für mich gemacht haben.

Besonders geht mein Dank an

- meinen Doktorvater *Andreas Bausch*, der mich immer unterstützt hat und immer eine Idee hatte, wie man das aktuelle Problem angeht. Seine Begeisterung für die Physik »dahinter« zusammen mit der freien Arbeitsatmosphäre war immer ein Ansporn für mich. Mit bunten Graphen mit wechselnden Farbcodes konnte ich ihn immer fesseln.
- meinen Kollegen *Bernhard Wunderlich* mit dem man ausführlich nach einem Vorfaktor von zwei Drittel suchen kann und viele andere Vorfaktoren findet. Mit seinem Laborbuch und Bleistift im Halfter hat er immer etwaige Zweifel niedergerechnet.
- *Martin Kröger*, der uns mit seinen Simulationsdaten immer zeigen konnte wie das ganze aussieht, wenn man nicht an experimentelle Beschränkungen gebunden ist.
- meine Bachelor-Studenten bzw. Master-Studenten *Fabian Zeller* und *Benjamin Huber*.
- meinen Bürokollegen *Benjamin Pelz*, *Heinrich Grabmayr*, *Anja Gieseke*, *Uli Klessinger* die im Dschungelbüro immer für eine tolle Atmosphäre sorgten.
- Allen Mitgliedern von E22/E27 für ein tolles Klima am Lehrstuhl und die vielen Kuchen.
- meine Frau *Marta* dafür, dass sie mich immer unterstützt hat und immer Verständnis für ihren Techie-Mann hatte.
- meine Familie, die mich immer unterstützt hat.

Publikationsliste

- *Permeability of Silk Microcapsules Made from the interfacial Adsorption of Protein*,
K. D. Hermanson, M. Harasim, T. Scheibel, A. R. Bausch;
CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS (2007), **9**,(2007), 6442
- *Assembly kinetics determine the structure of keratin networks*,
J. Kayser , H. Grabmayr , M. Harasim , H. Herrmann and A. R. Bausch;
SOFT MATTER, **8**, (2012), 8873-8879
- *Direct observation of the dynamics of semiflexible polymers in shear flow*,
M. Harasim, B. Wunderlich, O. Peleg, M. Kroger, A. R. Bausch;
PHYSICAL REVIEW LETTERS, **110**, (2013), 108302