

Krümmungsinduzierte Wechselwirkungen zwischen fluktuierenden Membranen und diffundierenden Proteinen

Von der Fakultät Mathematik und Physik der Universität Stuttgart
zur Erlangung der Würde eines Doktors der
Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) genehmigte Abhandlung

vorgelegt von

Stefan Leitenberger

aus Reutlingen

Hauptberichter: Prof. Dr. Udo Seifert
Mitberichter: Prof. Dr. Christian Holm

Tag der Einreichung: 26. April 2010
Tag der mündlichen Prüfung: 09. Juli 2010

II. Institut für Theoretische Physik der Universität Stuttgart
2010

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Stuttgart, 25. April 2010

Stefan Leitenberger

Inhaltsverzeichnis

Summary	17
Kurzfassung	21
I Einleitung und Grundlagen	27
1 Einleitung	29
2 Allgemeine Grundlagen	33
2.1 <i>Langevin</i> -Gleichung	33
2.2 <i>Fokker-Planck</i> -Gleichung	34
2.3 Von der <i>Fokker-Planck</i> -Gleichung zu einer <i>Langevin</i> -Gleichung	35
2.4 <i>pre-averaging</i> -Näherung	36
3 Membranen	37
3.1 Biologische und mechanische Eigenschaften	37
3.2 Gekrümmte Oberflächen	40
3.3 <i>Monge</i> -Darstellung	41
3.4 <i> Helfrich </i> -Energie	42
3.5 Membrandynamik	43
4 Diffusion	47
4.1 Bestimmung der Diffusionskonstanten	47
4.2 Diffusion auf gekrümmten Oberflächen	48
II Modellsystem und Simulationsmethode	51
5 Modell	53
5.1 Modellsystem	53
5.2 Resultierende Bewegungsgleichungen	56
6 Simulationsmethode	57

III Ein diffundierendes Proteine	59
7 Modenspektrum	61
7.1 Analytischer Spezialfall $m = \kappa$	61
7.1.1 Zeitunabhängige Mittelwerte der Höhenfunktion $h(\mathbf{k}, t)$	61
7.1.2 Zeitabhängige Mittelwerte der Höhenfunktion $h(\mathbf{k}, t)$	62
7.2 Vergleich der analytischen Rechnungen mit numerischen Simulationen	64
7.2.1 Zeitunabhängige Höhen-Korrelationen	65
7.2.2 Prinzip des effektiven κ	66
7.2.3 Zeitabhängige Höhen-Korrelationen	68
8 Einfluss auf die Diffusion	75
8.1 Simulationsdaten	75
8.2 Komponenten des mittleren Abstandsquadrates	76
8.3 Bestimmen der effektiven Diffusionskonstanten	80
IV Zwei diffundierende Proteine	87
9 Effektives Wechselwirkungspotential	89
9.1 Analytischer Spezialfall $m = \kappa$	89
9.2 Simulationen	91
9.2.1 Der Fall gleicher Krümmung	92
9.2.2 Der Fall entgegengesetzter Krümmung	94
9.2.3 Wahrscheinlichkeit für einen bestimmten Abstand	94
10 Verändertes Modenspektrum für zwei Proteine	97
11 Einfluss auf die Diffusion bei zwei Proteinen	101
11.1 Simulationen	101
11.2 Effektive Diffusionskonstante für zwei Proteine	104
12 Lebensdauer der Proteinpaare	109
V Diskussion und Ausblick	113
13 Vergleich ein und zwei Proteine	115
14 Ausblick	119
VI Anhang	121
A Rechnungen	123
A.1 <i>Helfrich</i> -Energie	123
A.1.1 <i>Helfrich</i> -Energie für eine freie Membran	123

A.1.2 <i>Helfrich</i> -Energie \mathcal{H}_{1T} für ein eingebettetes Protein	123
A.1.3 <i>Helfrich</i> -Energie \mathcal{H}_{2T} zwei ein eingebettete Proteine	124
A.2 Nebenrechnung zur Höhen-Höhen-Korrelation	126
A.3 Zusätzliche Kraft $\mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, t)$ auf das Protein durch die Rückkopplung	129
Literaturverzeichnis	131
Lebenslauf	137
Danksagung	139

Abbildungsverzeichnis

2.1	<i>Brown'sche</i> Bewegung von Pollen im Lichtmikroskop	33
2.2	Beispiel einer Korrelationsfunktion	34
3.1	Schema einer biologischen Membran	38
3.2	Mechanische Eigenschaften von Membranen	39
3.3	Geometrie einer zwei-dimensionalen Fläche im Raum	40
3.4	Skizze zur <i>Monge</i> -Darstellung	41
4.1	Projizierte Diffusion	49
5.1	Schema Bakteriorhodopsin	53
5.2	Schema Modellprotein	55
6.1	Schema des Proteins in der diskretisierten Membran	57
7.1	Einfaches Mittel der Höhen-Funktion $\langle h(\mathbf{k}, t) \rangle$	66
7.2	Höhen-Höhen-Korrelation für gleiche Zeiten $t = t'$ und $m = \kappa$	67
7.3	Höhen-Höhen-Korrelation für gleiche Zeiten $t = t'$ und $m \neq \kappa$	67
7.4	Effektives κ für unterschiedliche C_p	69
7.5	Effektives κ für unterschiedliche m	69
7.6	Die zwei Zeitregime der zeitabhängigen Höhenkorrelationsfunktion	70
7.7	Abklingzeit $\tau_D(k)$ mit Inset D_{eff}/D_0	71
7.8	Abklingzeit $\tau_D(k)$ mit Inset $\tau_M(k)$	71
7.9	Zeitskalenübergang der Höhen-Höhen-Korrelation	72
8.1	Bestimmung der Diffusionskonstanten	75
8.2	D_{eff}/D_0 für $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2/\text{s}$	77
8.3	D_{eff}/D_0 für unterschiedliche D_0	77
8.4	Korrelationsfunktion der durch die Membran vermittelten Kraft	79
8.5	Beiträge der integrierten Korrelationsfunktionen zum MSD	81
8.6	Beiträge der integrierten Korrelationsfunktionen zu D_{eff}	81
9.1	Mittlere Membrankonfiguration bei zwei Proteinen	90
9.2	Differenz der <i>Freien</i> Energie im Fall gleicher Krümmung	93
9.3	Membranschnitte im Fall gleicher Krümmung	93
9.4	Entropie als Funktion des Abstandes	94
9.5	Differenz der <i>Freien</i> Energie im Fall entgegengesetzter Krümmung	95
9.6	Membranschnitte im Fall entgegengesetzter Krümmung	95
10.1	Höhen-Höhen-Korrelation bei zwei Proteinen für $t = t'$ und $m = \kappa$	98

10.2 Höhen-Höhen-Korrelation bei zwei Proteinen für $t = t'$ und $m \neq \kappa$	99
11.1 Beispiel für den ortsabhängigen Versatz	102
11.2 Diffusion bei zwei Proteinen	103
11.3 Abstandsabhängige Diffusion der Schwerpunktes	107
11.4 Schwerpunktsdiffusion für verschieden $C_p \ell$	108
12.1 Zeitliche Abnahme der Paare bei $C_p \ell = 1$	110
12.2 Zeitliche Abnahme der Paare bei $C_p \ell = 0.5$	110
12.3 Paarlebensdauer als Funktion von $m\beta$	111

Tabellenverzeichnis

8.1	1 Proteindiffusion bei unterschiedlichen C_p	76
9.1	Tiefe des Wechselwirkungspotentials für unterschiedliche $m\beta$	92
11.1	Diffusionskonstanten bei zwei Proteinen	104
12.1	Übersicht Paarlebensdauer	111
13.1	Übersicht freie Diffusion	117
13.2	Übersicht Paardiffusion	117

Symbolverzeichnis

Membran

$\mathbf{r} = \mathbf{r}(x, y)$	Projizierter Ort (x, y) eines Membranpunkts in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene
\mathbf{k}	Wellenvektor
k	Betrag des Wellenvektors
g	Metrik der Oberfläche
$h(\mathbf{r}, t)$	Auslenkung der Membran am Ort \mathbf{r} in \hat{z} -Richtung
$h(\mathbf{k}, t)$	Fourier-Transformierte von $h(\mathbf{r}, t)$
$\hat{h}(\mathbf{k}, t)$	Moden im Energieminimum der Membran
h_i	Abkürzung für $h_i \equiv \partial_i h$
$\xi(\mathbf{k}, t)$	Stochastische Kraft auf die Membran
κ	Biegesteifigkeit der Membran
κ_{eff}	Effektive Biegesteifigkeit der Membran
σ	Oberflächenspannung der Membran
\mathcal{H}_0	Freie Energie nach Helfrich für die ungestörte Membran
\mathcal{H}_1	Zusätzliche Energie zur <i>Helfrich</i> -Energie bei Wechselwirkungen zwischen Membran und Protein
\mathcal{H}_{1T}	<i>Helfrich</i> -Energie für eine Membran mit einem zusätzlichen Protein
\mathcal{H}_{2T}	<i>Helfrich</i> -Energie für eine Membran mit zwei zusätzlichen Proteinen
$\tau_M(k)$	Zeitskala der ungestörten Membran
τ_{co}	Schnittpunkt der zwei Zeitregime der Höhen-Höhen-Korrelation

Protein

$\mathbf{R} = \mathbf{R}(X, Y)$	Projizierter Ort des Proteins auf der Membran in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene
$\zeta(\mathbf{R}, t)$	Stochastische Kraft auf das Protein
$\mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t)$	Durch die Membran ausgeübte Kraft auf das Protein, $\mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t) \equiv \nabla_{\mathbf{R}} \mathcal{H}$
a_p	Radius des Proteins
C_p	Spontane Krümmung des Proteins
$G(\mathbf{r} - \mathbf{R})$	Ausdehnungsfunktion des Proteins
m	Biegesteifigkeit des Proteins
μ	Beweglichkeit in der Membran
μ_p	Projizierte Beweglichkeit in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene
D	Diffusionskonstante
D_0	Freie Diffusion in der Membran
D_p	Projizierte freie Diffusion in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene
D_{eff}	Effektive Diffusionskonstante
$P'(x, y, t)$	Wahrscheinlichkeit ein Protein am Ort $(x, y, h(\mathbf{r}, t))$ in der

	Membran zu finden
$P(x, y, t)$	Wahrscheinlichkeit ein Protein am Ort (x, y) in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene zu finden
ρ	Proteindichte $\rho \equiv N_P \pi a_p^2 / L^2$
N_P	Anzahl Proteine in der Membran
$\tau_D(k)$	Zeitskala der Diffusion

Effektives Wechselwirkungspotential

i	Proteinindex
ΔF	Differenz der Freien Energie
\mathbf{d}	Abstandsvektor zwischen den beiden Proteinen
N_C	Anzahl gebundener Proteine (Cluster)
$\mathcal{P}_d(d)$	Wahrscheinlichkeit die zwei Proteine im Abstand d zu finden
\mathbf{R}_i	Ort des Proteins i in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene
\mathbf{R}_S	Schwerpunkt der beiden Proteine
S	Entropie
τ_{esc}	Lebensdauer eines Proteinclusters

Simulation

n_x, n_y	Positionen auf dem Gitter
N	Anzahl der Gitterpunkte
L	Länge der Membran
ℓ	Längeneinheit, entspricht gleichzeitig der Gitterkonstanten
$\#ts$	Anzahl der Zeitschritte
Δt	Zeitschritt

Konstanten und Definitionen

k_b	Boltzmann-Konstante
T	Temperatur des Systems
β	Inverse thermische Energie $\beta \equiv 1/k_b T$
$\Lambda(\mathbf{r}-\mathbf{r}')$	Oseen-Tensor in Ortsdarstellung
$\Lambda(k)$	Oseen-Tensor in Modendarstellung
η	Viskosität von Wasser
$E(k)$	Abkürzung für $E(k) \equiv \kappa k^4 + \sigma k^2$
$\gamma(k)$	Abkürzung für $\gamma(k) \equiv \Lambda(k) E(k)$
$c(k)$	Abkürzung für $c(k) \equiv \Lambda(k) m C_p \pi a_p^2 k^2 \exp\{-k^2 a_p^2 / 4\}$
$\mathbf{c}(\mathbf{k}, t)$	Abkürzung für $\mathbf{c}(\mathbf{k}, t) \equiv c(k) \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}(t)\}$
Z	Zustandssumme

Abkürzungen

BR	Bakteriorhodopsin
DGL	Differentialgleichung
FP	<i>Fokker-Planck</i> -Gleichung
KMEK	<i>Kramers-Moyal</i> -Entwicklungskoeffizienten
MSD	Mean Squared Displacement - Mittleres Abstandsquadrat
WWP	Wechselwirkungspotential

Summary

Recognizing and understanding the biological processes in cells are essential for further development in medical and applied sciences. Obviously, for this purpose, manipulations of biopolymers, membranes, vesicles and the modifications of cells are required. The static influence of polymers and proteins on membranes is well understood, however their influence on the dynamics of membranes is rather unknown. Also the dependence of the protein-diffusion on the protein's mechanical and geometrical properties, apart from the radius, have not been studied systematically.

In this work, a model is presented that considers the influence of mechanical and geometrical properties of the proteins, i.e., the radius, a spontaneous curvature and the bending rigidity, on the membrane dynamics and the lateral diffusion of the proteins themselves. The total energy of the system corresponds to the *Helfrich* -energy with additional correction terms for the embedded proteins. In order to perform analytical calculations and simulations, the equations of motion of the system are derived from the total *Helfrich* -energy.

In the simulations, the continuous membrane is mapped to a periodic square lattice. The lattice spacing is specified by a length scale on which the membrane can be considered as almost rigid. Therefore, one has to calculate the height fluctuations only at the lattice sites. These calculations are performed in *Fourier* space which is spanned only by discrete wave vectors. In the absence of a protein, the height modes decouple for the unperturbed membrane. However, in the presence of proteins, the decoupling is valid only in the special case when the bending rigidities of the membrane and the proteins are equal. If these bending rigidities are different, the height modes are coupled and the coupling is described by a matrix which contains the influence of different wave vectors on each other. Since it is challenging to invert this matrix, analytical calculations are limited. However, in the simulations, this can be done numerically. The protein-diffusion is not restricted to lattice sites. In order to calculate necessary quantities at the protein's position, a linear distance-weighted approximation of the four nearest neighbors is used. To compare with experimental results where the change in height is too small to be observed due to the lack of resolution, the path of the protein is projected into a flat reference plane. The time is discretized in the numerical integration of the equations of motion for the membrane and the diffusing protein. The numerical integration of the coupled equations for the membrane height and the protein position are performed stepwise one after another until the number of given timesteps are reached.

The equation of motion for the membrane which is influenced by the protein leads to altered averages and correlations of the membrane height which are first considered to be time independent. Here the average height and the height-height correlation function are calculated in *Fourier* -space for equal bending rigidities. The average height vanishes if one averages over all possible protein positions, whereas the height-height correlations takes nonzero values. The height-height correlation function has two additive contributions, one

from the unperturbed membrane and one from the perturbation caused by the protein. The additive term from the perturbation is proportional to the properties of the protein, e.g., the bending rigidity, the spontaneous curvature and the expansion of the protein. There is a remarkable dependence of the additive term on the wave vectors where only small wave vectors contribute to the height-height correlation function. The ratio of the observed to the unperturbed height-height correlations shows that the embedded protein always leads to enhanced amplitudes of the height-height correlations. The analytically calculated expression as a function of the spontaneous curvature is confirmed in the simulations. These simulations are not limited to equal bending rigidities. Going beyond this restriction, one observes a further enhancement of the amplitude with increasing bending rigidities of the protein. The qualitative picture remains unchanged where the correlation function is *Gaussian* around the origin. This is due to the fact, that the extension of the protein is given by a *Gauss*-function. By rewriting the height-height correlations, an effective bending rigidity of the membrane is extracted. This is interesting from the experimental point of view since the bending rigidity of a membrane is usually determined without considering other membrane inclusions. In the model discussed here, increasing the bending rigidity of the protein leads to an effective softening of the membrane.

For equal bending rigidities, a time dependent height-height correlation function is analytically calculated. The two time regimes obtained here correspond to the time scales of the membrane dynamics and the protein-diffusion. Likewise, as in the time-independent case, the time-dependent correlations is split up in the unperturbed membrane part with the corresponding time decay which is not altered by the protein and an additive term. This additive term decays on the time scale of the effective diffusion. This decay on the time scale of the diffusion is, in biological relevant systems, slower than the time scale of the membrane. The time-dependent version of the correlations also agrees very well with the simulations. In further simulations with increasing bending rigidities of the protein, these time scales are also observed. Although the analytical calculations are not longer valid, the time decay is also on the scale of the effective diffusion and the decay is calculated analytically by using the effective diffusion coefficient determined from the mean squared displacement. The analytical expression of this long time decay is also used to determine the effective diffusion coefficient from the time decay of the height-height correlations. This is very interesting for practical purposes since no particular knowledge of the protein and its properties are required, except the fact that the protein has a spontaneous curvature. From these two time scales, a crossover time is defined. By obtaining this crossover time, it can be shown whether an experimental observation is possible or not. According to usual experimental methods, both time regimes should be accessible at small wave vectors.

For the protein-diffusion, first the simulation data are presented. In the simulations, a strong reduction in the diffusion coefficient is observed as compared to the case of free diffusion. This effect is enhanced with increasing the bending rigidity of the protein. Simulations with very large free diffusion coefficients show a reduction by two orders of magnitude. This can be explained by the various contributions of the correlations to the mean squared displacement. Here a very strong correlations between the stochastic force on the protein and the response of the membrane on the protein-movement forces the protein to always be near a local minimum of the energy. Due to this fact, a saddle-point approximation around the minimum of the *Helfrich* -energy is applied within a path integral ansatz. This yields, in the lowest order of the product of the thermal and the bending

rigidity ($\kappa\beta$), an equation for the effective diffusion coefficient. This effective diffusion coefficient, as compared to the free diffusion coefficient, is always reduced and depends on the gradient of the height modes corresponding to the minimized *Helfrich* -energy with respect to the protein position. The diffusion coefficient resulting from this equation matches the simulation data very well within the numerical errors.

After studying the dynamics of the system for one embedded protein in detail, the calculation is extended to two proteins. In the case of two proteins, the membrane-induced effective interaction-potential is determined. In the special case of equal bending rigidities, an analytical expression for the difference in the *free* energy is obtained. The necessary *Helfrich* -energy for two proteins is obtained by adding an additional term, corresponding to a second protein, to the energy of the system for one protein. The effective interaction-potential obtained in this way is a *Gaussian* function depending on the distance between the two proteins and is proportional to the spontaneous curvatures of the proteins. Depending on the sign of the curvatures, two different cases can occur: The proteins repel themselves for different signs, whereas for identical signs they attract each other. The analytically computed effective interaction is confirmed in the simulations. Beyond the special case of equal bending rigidities, an enhancement of the attractive behavior with rising bending rigidity of the proteins emerges. From the average *free* energy and the average *Helfrich* -energy, calculated in the simulations, one can also calculate the average entropy. The entropy calculated in this way does not follow the qualitative feature of the *free* energy and is a constant independent of the distance between proteins within numerical errors. Also the variation of the bending rigidity of the proteins does not seem to have an influence on the entropy.

Functions, like the time independent height-height correlation, as considered before, are naturally of interest also for two proteins. In the case of equal bending rigidities, the height-height correlation function is calculated analytically and has similar contributions to the correlations for one protein. It consists of the term for the unperturbed membrane, an additive corresponding term for each protein and a further additive term containing the interaction. Beyond some distance this interaction term is very small so that the interaction term can be effectively considered to disappear. However, it becomes important for small distances. Thus the cases of small and large distances between the proteins are distinguished. For large distances, therefore implying weak interaction, the analytical height-height correlations is confirmed by the simulations. These correlations are used to extract an effective bending rigidity for two proteins as was done for one protein. The second protein leads to a further softening of the membrane which corresponds to a further amplification of the height-height correlations. In the case of small distances, it is only possible to calculate the bounds for the minimal and the maximal interaction. However in the special case of equal bending rigidities, the simulations show only a small deviation from the analytical curve corresponding to a vanishing interaction. As one will see later on, the effective interaction in this case is very weak so that the proteins disjoin. This scenario corresponds to the case of large distances. For increasing bending rigidities, the interaction is stronger and the proteins move together for a longer time. This becomes apparent in the enhancement of the amplitude in the correlation function, compared to large distances.

Given that the dynamics of the system, and thus the height-height correlations, has a direct influence on the diffusing protein, the distinction between small and large distances is used for investigating the diffusion. For large distances, the proteins can diffuse inde-

pendently of each other. The observed diffusion coefficients are roughly the same as for a single protein. In the case of small distances where the proteins feel the membrane-induced interaction, the proteins can be regarded as a pair and the center of mass movement is examined. This center of mass movement is half of the diffusion coefficient of the individual proteins. The path integral formalism is also applied in the two protein case. Formally the same expression for the effective diffusion coefficient is obtained as for one single protein. The only difference is that one has to replace the height modes by those corresponding to the minimal *Helfrich* -energy for two proteins. The same calculation is done for the new coordinates consisting of the center of mass and relative distance. Here the gradient with respect to the protein-position is replaced by the gradient with respect to the center of mass position. Apart from that, it has the same form as the previous results. For all cases considered here, one needs the height modes corresponding to the minimal *Helfrich* -energy. In the case of two proteins, this is done for the special case of equal bending rigidities. In this case, the diffusion of the individual proteins does not depend on the distance between them. The center of mass diffusion however shows a distance dependence. As analytically shown, this dependence on the distance is so small that it cannot be resolved in the simulations and is therefore neglected. The diffusion coefficient in the special case of equal bending rigidities coincides with the simulation results. To obtain qualitative results also for different bending rigidities, the simulations are compared with the analytical results for one single protein revealing very good qualitative agreement. However, the diffusion of the individual proteins is slightly faster than that obtained from the analytical calculation. This deviation is due to the fact, that the modes obtained by minimizing the energy for one protein were used. For the center of mass diffusion, the simulations are compared to the effective diffusion of a single protein with the area being doubled. This estimate also agrees well with the simulation results.

So far the correlated movement of the proteins has been considered. It has been shown that the correlations are so pronounced that the proteins move together for a certain time and can be treated as a cluster. The lifetime of the cluster cannot be calculated analytically and therefore only the simulation results are presented. Generally, the lifetime of the protein-cluster increases with the bending rigidity and the spontaneous curvature. The measured lifetimes range from tenths of a millisecond to a couple of seconds.

In this work, a model to determine the influence of the mechanical and geometrical properties on the experimental observables like the height-height correlation function and the protein diffusion has been presented. In addition, a possible reason for the clustering of proteins has been given and the lifetime of the cluster, which is dependent on the interaction-potentials, has been estimated in the simulations. The interaction considered here is induced by the membrane and is not caused by a direct interaction between the proteins.

Kurzfassung

Das Erkennen und Verstehen von biologischen Abläufen in der Zelle ist für die weitere Entwicklung in der Medizin und angewandten Wissenschaften von großer Bedeutung. Das Manipulieren von Biopolymeren, Membranen, Vesikeln und das Verändern von Zellen ist dabei fast schon selbstverständlich geworden. Hierbei sind die statischen Einflüsse von Polymeren oder Proteinen auf Membranen gut verstanden, aber der Einfluss auf die Membrandynamik ist noch weitestgehend unbekannt. Auch die Abhängigkeiten der Diffusion der Proteine von ihren mechanischen und geometrischen Eigenschaften sind, abgesehen vom Radius, noch nicht systematisch bestimmt.

In dieser Arbeit wird ein Modell präsentiert, welches den Einfluss von mechanischen und geometrischen Eigenschaften der Proteine auf die Dynamik der Membran und die laterale Diffusion der Proteine beschreibt. Dazu zählen der Radius, eine spontane Krümmung und die Biegesteifigkeit. Die Gesamtenergie des Systems entspricht der *Helfrich* -Energie mit zusätzlichen Korrekturtermen für die eingebetteten Proteine. Aus dieser Energie werden zunächst die für die durchgeführten Rechnungen und Simulationen benötigten Bewegungsgleichungen des Systems aus der Gesamtenergie des Systems abgeleitet.

Für die Simulationen wird die kontinuierliche Membran auf ein Gitter übertragen. Die Gitterkonstante wird auf eine Größe festgelegt, auf deren Längenskala die Membran in guter Näherung als sehr steif angesehen werden kann. Hierdurch müssen nur die Höhenänderungen an den Gitterpunkten berechnet werden. Diese Berechnungen finden im *Fourier* -Raum statt. Aufgrund des Gitters können im *Fourier* -Raum nur diskrete Wellenvektoren auftreten. Während diese Wellenvektoren für die ungestörte Membran entkoppeln, ist dies mit den zusätzlichen Proteinen nur für den Fall gleicher Biegesteifigkeiten von Membran und Proteinen richtig. Weichen die Biegesteifigkeiten voneinander ab, so tritt eine analytisch nur unter hohem Aufwand invertierbare Matrix auf, welche die Einflüsse der Wellenvektoren aufeinander beschreibt. Dies kann in den Simulationen leicht numerisch gelöst werden, schränkt jedoch die Möglichkeiten bei der analytischen Betrachtung ein. Die Proteindiffusion entlang der Membran ist nicht auf das Gitter beschränkt, und die Proteine können Positionen zwischen den Gitterpunkten einnehmen. Um dennoch benötigte Größen der Membran am Ort der Proteine zu erhalten, wird hierfür eine lineare, abstandsgewichtete Mittelung verwendet. Für eine bessere Vergleichbarkeit mit Experimenten, welche die geringen Höhenunterschiede der Membran nur schwer auflösen können, wird die Proteindiffusion noch in eine Beobachtungsebene projiziert. Für die zeitliche Entwicklung des Systems werden diskretisierte Bewegungsgleichungen für die Membrandynamik und die Diffusion verwendet. Diese, durch die Membranhöhe und die Proteinorte gekoppelten Gleichungen, werden abwechselnd schrittweise ausgeführt bis die vorgegebene Anzahl von Zeitschritten erreicht ist.

Die veränderte Bewegungsgleichung für die Membrandynamik führt zu veränderten Mittelwerten und Korrelationen für die Membranhöhe. Diese werden zuerst ohne Zeitabhängigkeit betrachtet. Hier kann für gleiche Biegesteifigkeiten von Membran und Protein die mitt-

lere Höhe und die mittlere Höhen-Höhen-Korrelation im *Fourier*-Raum berechnet werden. Die mittlere Höhe verschwindet bei der Mittelung über alle möglichen Proteinorte, wohingegen die Höhen-Höhen-Korrelation eine von Null verschiedene Funktion ergibt. Diese setzt sich aus der Höhen-Höhen-Korrelation der ungestörten Membran und einem additiven Term zusammen. Dieser additive Term ist proportional zu den Proteineigenschaften, wie der Biegesteifigkeit, der spontanen Krümmung und der Ausdehnung. Bemerkenswert ist die Wellenvektorabhängigkeit der Störung durch das Protein, durch die nur Moden mit kleinen Wellenvektoren eine Änderung erfahren, wohingegen größere Moden den Moden der ungestörten Membran entsprechen. Bildet man das Verhältnis aus gestörter zu ungestörter Höhen-Höhen-Korrelation zeigt sich die stets positive Amplitudenanregung durch das Protein. Der analytisch gefundene Verlauf der beiden betrachteten Größen wird im Rahmen der numerischen Genauigkeit in den Simulationen bestätigt. Die Simulationen sind hierbei nicht an die Beschränkung der Biegesteifigkeit im Spezialfall gebunden. Geht man mit den Simulationen über den Spezialfall hinaus, erkennt man für wachsende Proteinsteifigkeiten eine deutliche Verstärkung der Amplituden. Der qualitative Kurvenverlauf, welcher aufgrund der gewählten Ausdehnungsfunktion für das Protein einer *Gauß*-Glocke um den Ursprung entspricht, bleibt dabei unverändert.

Aus dieser Gleichung für die Höhen-Höhen-Korrelation kann, durch Umformung, eine effektive Biegesteifigkeit der Membran abgeleitet werden. Dies ist aus experimenteller Sicht interessant, da die Bestimmung der Biegesteifigkeit der Membran meist ohne Berücksichtigung weiterer Membraneinschlüsse erfolgt. Hier zeigt sich eine Verringerung der effektiven Biegesteifigkeit mit zunehmender Biegesteifigkeit des Membraneinschlusses.

Für die Höhen-Höhen-Korrelation wird im Spezialfall gleicher Biegesteifigkeiten ebenfalls die Zeitabhängigkeit analytisch ermittelt. Hierbei werden zwei Zeitregime gefunden, welche die jeweiligen Zeitskalen der Membrandynamik und der Proteindiffusion widerspiegeln. Auch hier kann die Korrelationsfunktion wieder in die ungestörte Membran, mit entsprechendem zeitlichen Abfall, und den additiven Term aufgespalten werden. Dieser additive Term fällt auf der Zeitskala der Diffusion ab. Auch die Zeitabhängigkeit stimmt sehr gut mit den Simulationen überein. In weiteren Simulationen für wachsende Biegesteifigkeiten des Proteins sind die Zeitskalen ebenfalls zu erkennen. Obwohl analytischen Rechnungen hier nur unter hohem Aufwand möglich wären, kann mit Hilfe der effektiven Diffusionskonstante, bestimmt aus dem mittleren Abstandsquadrat, der zeitliche Abfall des Störterms mit der zuvor analytisch berechneten Zerfallszeit sehr gut bestimmt werden. Dies geht so weit, dass über die zeitlichen Zerfälle der einzelnen Moden die effektive Diffusionskonstante bestimmt werden kann. Praktischerweise sind dafür keine weiteren Kenntnisse über das Protein nötig. Der zeitliche Zerfall des ungestörten Korrelationsanteils wird durch die Anwesenheit eines Einschlusses nicht verändert. Für diese zwei Zeitskalen kann eine Übergangszeit definiert und die Möglichkeit für eine experimentelle Beobachtbarkeit abgeschätzt werden. Entsprechend den gängigen Messmethoden sollten die beiden Zeitregime für kleine Modenzahlen bestimmbar sein.

Für die Proteindiffusion werden zunächst nur Simulationsdaten vorgestellt. In den Simulationen zeigt sich im Vergleich zur ungestörten Diffusion eine deutliche Verringerung. Dieser Effekt nimmt mit der Biegesteifigkeit des Proteins zu. Simulationen mit einer sehr schnellen ungestörten Diffusion zeigen sogar eine Verlangsamung um das hundertfache. Diese Reduktion wird über die Beiträge der einzelnen Korrelationen zum mittleren Abstandsquadrat erklärbar. Hier zeigt sich eine sehr starke Korrelation zwischen der stocha-

stischen Kraft auf das Protein und die aus der Bewegung resultierende rücktreibende Kraft durch die Membran. Diese rücktreibende Kraft wirkt der stochastischen Kraft direkt entgegen, wodurch sich das Protein stets nahe bei einem lokalen Energieminimum aufhalten wird.

Aufgrund dieser Tatsache kann in einem Pfadintegralansatz eine Sattelpunktsnäherung um die minimale *Helfrich* -Energie durchgeführt werden. Damit erhält man in niedrigster Ordnung des Produkts aus der Biegesteifigkeit der Membran und der inversen thermischen Energie ($\kappa\beta$), eine Gleichung für die effektive Diffusion. Diese effektive Diffusion ist stets kleiner als die ungestörte Diffusion und im Wesentlichen vom Gradienten der zur minimalen *Helfrich* -Energie gehörenden Moden nach dem Membranort abhängig. Diese können leicht über die Minimierung der *Helfrich* -Energie berechnet werden. Die mit diesem Formalismus berechneten Diffusionskonstanten decken sich innerhalb der Fehlergrenzen sehr gut mit den Simulationen.

Nachdem die Dynamik des Systems für ein Protein ausführlich untersucht wurde, werden im Folgenden zwei Proteine betrachtet. Dazu muss zunächst die membraninduzierte Wechselwirkung zwischen den Proteinen bestimmt werden. Im Spezialfall gleicher Biegesteifigkeiten kann diese über die Differenz der *Freien* Energie bestimmt werden. Die hierzu nötige *Helfrich* -Energie für zwei Proteine kann, durch Addition eines weiteren Proteins zur *Helfrich* -Energie für ein Protein, berechnet werden. Das so gefundene effektive Wechselwirkungspotential ist *Gauß* förmig vom Abstand abhängig und proportional zu den jeweiligen Krümmungen der Proteine. Je nach Vorzeichen der Krümmungen ergibt sich ein unterschiedliches Verhalten. Während sich für unterschiedliche Vorzeichen die Proteine abstoßen, weisen diese für identische Vorzeichen ein attraktives Verhalten auf. Dieses Verhalten und der quantitative Verlauf der analytisch berechneten effektiven Wechselwirkung können in den Simulationen bestätigt werden. Über den Spezialfall hinaus zeigt sich eine Verstärkung des attraktiven Verhaltens mit steigender Biegesteifigkeit der Proteine. Da in den Simulationen sowohl die mittlere *Freie* Energie als auch die mittlere *Helfrich* -Energie des Systems bestimmt werden, kann direkt die abstandsabhängige mittlere Entropie berechnet werden. Diese folgt nicht dem Verlauf der *Freien* Energie und kann innerhalb der Fehlergrenzen der Simulation als konstant angenommen werden. Auch die Variation der Biegesteifigkeit der Proteine scheint keinen Einfluss auf die Entropie zu haben.

Natürlich sind die zuvor für ein Protein betrachteten Größen, wie die zeitunabhängige Höhen-Höhen-Korrelation, auch für ein Zwei-Protein-System interessant. Im Spezialfall kann diese analytisch berechnet werden und ist ähnlich wie die bereits bekannte Korrelation für ein Protein aufgebaut. Sie besteht aus der Korrelation der ungestörten Membran, jeweils dem bekannten additiven Term für das entsprechende Protein und einem weiteren additiven Term, welcher auf die effektive Wechselwirkung zurück geht. Diese ist ab einem gewissen Abstand sehr gering, sodass dieser Wechselwirkungsterm verschwindet. Für geringe Abstände wird er jedoch eine Rolle spielen. Somit wird hier zwischen den beiden Grenzfällen geringem und großem Proteinabstand unterschieden. Für große Abstände - und damit verschwindender Wechselwirkung - kann die analytische Korrelation sehr gut durch die Simulationen bestätigt werden. Es bietet sich an, für diesen Fall ebenfalls eine effektive Membranbiegesteifigkeit zu bestimmen. Diese verringert sich durch das zweite Protein noch mehr. Für größere Biegesteifigkeiten der Membran wächst die Amplitude der Höhen-Höhen-Korrelation noch stärker an als für ein Protein. Im Grenzfall geringer Abstände können analytisch nur die Grenzfunktionen für maximale und minimale Wechsel-

wirkung angegeben werden. Für den Spezialfall ergibt sich allerdings nur eine sehr geringe Abweichung von der analytischen Kurve für minimale Wechselwirkung. Wie man später sehen wird, ist die effektive Wechselwirkung hier so schwach, dass die Proteine sich schnell voneinander entfernen und somit in den Grenzfall für große Abstände übergehen. Für zunehmende Biegesteifigkeiten wird die Wechselwirkung stärker und die Proteine verbleiben länger beieinander. Dies macht sich über eine Verstärkung der Amplitude der Korrelationsfunktion, im Vergleich zu großen Abständen, bemerkbar.

Da die Dynamik des Systems und damit die Höhen-Höhen-Korrelation einen direkten Einfluss auf die Proteindiffusion hat, wird die Unterscheidung der beiden Grenzfälle bei der Untersuchung der Diffusion beibehalten. Im Fall großer Abstände können die Proteine frei diffundieren und weisen grob dieselben Diffusionskonstanten wie ein einzelnes Protein auf. Für geringe Abstände, bei denen die Proteine noch die gegenseitige Wechselwirkung spüren, ist es sinnvoll, die Proteine als eine Einheit zu betrachten und entsprechend die Diffusion des Schwerpunktes zu untersuchen. Diese ist halb so schnell wie die Diffusion der einzelnen Proteine. Auch im Fall von zwei Proteinen kann über den bereits eingeführten Pfadintegralformalismus die effektive Diffusion abgeschätzt werden. Hier ergibt sich für die einzelnen Proteine formell dieselbe Gleichung für die effektive Diffusion wie für ein einziges Protein; allein die zur minimalen *Helfrich*-Energie korrespondierenden Moden unterscheiden sich. Dieselbe Rechnung kann auch für die neuen Koordinaten, Schwerpunkt und Abstand, durchgeführt werden. In diesem Fall ist im Ergebnis der Gradient nach den Membranorten durch den Gradienten nach dem Schwerpunkt ausgetauscht, hat ansonsten jedoch dieselbe Form. In allen Fällen müssen die minimierenden Moden berechnet werden. Dies ist für zwei Proteine nur für den bekannten Spezialfall möglich. Für diesen Spezialfall ist die Diffusion des einzelnen Proteins nicht vom Abstand der Proteine abhängig. Der Schwerpunkt hingegen weist eine Abstandsabhängigkeit auf. Diese ist jedoch im analytischen Spezialfall so gering, dass, im Rahmen der Simulationsgenauigkeit, selbst die extremalen Werte nicht unterscheidbar sind. Die so für den Spezialfall analytisch bestimmten effektiven Diffusionskonstanten decken sich sehr gut mit den Simulationsergebnissen. Um auch für unterschiedliche Biegesteifigkeiten analytische Aussagen zu erhalten werden die Simulationsergebnisse für einzeln diffundierende Proteine mit den analytischen Ergebnissen für ein Protein verglichen. Hier zeigt sich qualitativ eine sehr gute Übereinstimmung. Jedoch ist die Diffusion bei zwei einzelnen Proteinen leicht erhöht. Diese Abweichung kann durch die Verwendung der minimierenden Moden für ein Protein erklärt werden. Für die Diffusion des Schwerpunktes werden die Simulationen mit der effektiven Diffusion für ein Protein mit doppelter Fläche verglichen. Diese Abschätzung liefert auch sehr gute Ergebnisse.

In den bisherigen Betrachtungen wurde bereits auf eine korrelierte Bewegung der Proteine hingewiesen. Diese geht sogar so weit, dass die Proteine für große effektive Wechselwirkungen sehr lange gemeinsam, quasi als Paar, diffundieren. Für die Zeitskala der gemeinsamen Bewegung konnte keine analytische Bestimmung durchgeführt werden, sodass nur Simulationsergebnisse präsentiert werden. Allgemein steigt die Lebensdauer der Proteinpaaire mit der zunehmenden Biegesteifigkeit der Proteine und mit größeren spontanen Krümmungen. Die gemessenen Lebensdauern erstrecken sich von einer Zehntel Millisekunde bis zu mehreren Sekunden.

In dieser Arbeit wurde ein Modell vorgestellt, mit dessen Hilfe die Abhängigkeit experimentell erfassbarer Größen, wie der Höhen-Höhen-Korrelation und der Proteindiffu-

sion, von den geometrischen und mechanischen Eigenschaften der eingebetteten Proteine bestimmt werden kann. Zusätzlich konnte eine Ursache für die Bildung von Proteinpaaren aufgezeigt und deren wechselwirkungsabhängige Lebensdauer, über Simulationen, abgeschätzt werden. Die hierbei angesprochene Wechselwirkung wird durch die Membran induziert und stellt keine direkte Wechselwirkung zwischen den Proteinen dar.

Teil I

Einleitung und Grundlagen

1 Einleitung

Membranen kommt in der Biologie eine wichtige Funktion zu teil. Jede Zelle grenzt sich gegenüber ihrer Umwelt durch eine Membran ab. Auch innerhalb der Zellen werden einzelne Bereiche durch Membranen abgetrennt. Dabei geht die Rolle der Membran weit über die simple Trennung hinaus. Membranen sind vielmehr Objekte, welche eine Vielzahl unterschiedlicher Proteine beherbergen. Diese Proteine erfüllen vielfältige Aufgaben und regeln unter anderem den Transport in und aus der Zelle, stellen Ankerpunkte für tiefer liegende Zellstrukturen bereit oder sind Bestandteile von Signalwegen [1].

Der Aufbau von Membranen aus amphiphilen Lipiden ist durch ein Wechselspiel zwischen Oberflächenspannungen bzw. Kontaktenergien gegeben. Für ein wässriges Lösemittel ordnen sich die Lipide mit den hydrophoben Enden zueinander an [2]. Hierdurch entsteht eine Lipid-Doppel-Schicht, in der sich die Lipide bei Raumtemperatur frei bewegen können [3]. Oft wird diese Eigenschaft als fluide Phase bezeichnet. Die Proteine in der Membran können sich in der Membran ebenso frei wie die Lipide bewegen und können dabei sogar die Membranform beeinflussen. Die Membran mit ihren vielen Funktionen, mit den zugehörigen Proteinen und Interaktionen zwischen den Proteinen, ist ein sehr komplexes Gebilde, in dem sich auch Proteine gruppieren können. Hierdurch können Gebiete mit unterschiedlichen Eigenschaften entstehen [4]. Diese Einflüsse können in Experimenten und analytischen Rechnungen nicht alle gleichzeitig betrachtet werden. Man ist daher dazu übergegangen Modellmembranen aus nur einer oder wenigen Lipidsorten herzustellen, in denen nur einzelne funktionelle Proteine eingebettet sind. Für diese vereinfachten Modellsysteme sind die Bewegung der Proteine und die Membraneigenschaften physikalisch sehr interessante Themen.

Die Dynamik der Proteine kann über mehrere Methoden bestimmt werden, welche in den vergangenen Jahren stetig verbessert wurden. Sehr gute Ergebnisse werden mit Fluorescence-Correlation-Spectroscopie (FCS) [5], Fluorescence-Recovery-After-Photo-bleaching (FRAP) [6] und Single-Particle-Tracking (SPT) [7] erzielt. Mit Hilfe dieser Methoden konnte der Einfluss der Proteindiffusion auf die Funktion des Proteins, aber auch der umgekehrte Effekt, aufgezeigt werden. Die experimentellen Daten wurden in vielen theoretischen Arbeiten aufgegriffen. Zunächst musste eine Lösung der *Navier-Stokes*-Gleichung für die Hydrodynamik von Einschlüssen in zweidimensionalen fluiden Membranen gefunden werden. Die auf einfachem Weg erhaltene Lösung divergiert im Fall von nur zwei Dimensionen (*Stokes-Paradoxon*). Diese Tatsache veranlasste *Saffman* und *Delbrück* in ihrer zahlreich zitierten Arbeit [8] eine Lösung für eine Membran in einer flüssigen Umgebung mit starren Einbettungen zu entwickeln. Der gefundene Zusammenhang zwischen Radius und Diffusionskonstante konnte in vielen Experimenten bestätigt werden [9, 10, 11]. Neuere Experimente [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17] zeigen jedoch abweichende Ergebnisse, welche auch nicht durch eine Erweiterung der von *Saffman-Delbrück* durchgeführten Rechnungen [18] erklärt werden können. In diesen Experimenten zeigt sich auch, dass die Diffusion eines Einschlusses nicht nur von seiner Größe, sondern auch von seiner

Geometrie abhängig ist. Bei einzelnen Rezeptoren wird die Diffusion bei der Ankopplung von Liganden gehemmt [13], wohingegen bei einzelnen Ionenkanälen, wie dem Bakteriorhodopsin (BR), schon die Aktivierung ohne weitere Kopplungen ausreicht, um die Mobilität zu ändern [15].

Diese Beobachtungen führten zu allgemeinen theoretischen Betrachtungen, wie Einschlüsse die Membran beeinflussen können [19]. Für komplexere Einschlüsse konnte mittels MD Simulationen der Einfluss der Proteinkrümmung auf die Membranform aufgezeigt werden [20, 21, 22]. Dabei wurden auch die begünstigenden Effekte auf die Vesikelbildung erkannt [23, 24]. Im Fall von BR konnte zwischen den beiden möglichen Zuständen (aktiv/inaktiv) nicht nur ein Unterschied in der Mobilität, sondern auch in der jeweiligen Krümmung festgestellt werden.

Bisher wurde bei den Betrachtungen der Diffusion stillschweigend von ebenen Membranen und symmetrischen Einschlüssen ausgegangen. Der Einfluss von asymmetrischen Einschlussgeometrien wurde unter anderem in [25] untersucht. Die Diffusion in rauen Membranen [26] beziehungsweise in periodischen Potentialen [27] ist aus theoretischer Sicht durchaus interessant, spiegelt jedoch nicht die Bedingungen in Modellmembranen wider. Diese koppeln direkt an das umgebende Medium und werden hierdurch thermischen Fluktuationen ausgesetzt. Diese Fluktuationen können über videomikroskopische Verfahren [28] gemessen werden.

Aus theoretischer Sicht sind Membranen und ihre Fluktuationen als eine zwei-dimensionale Fläche mit einer bestimmten Biegesteifigkeit und einer effektiven Oberflächenspannung beschreibbar [29]. Die Doppellipidschichtstruktur der Membran, deren theoretisch vorhergesagter Einfluss [30] kürzlich experimentell bestimmt werden konnte [31], wird hierbei vernachlässigt. Weitere Störungen der Membrandynamik durch punktförmige Einschlüsse konnten in analytischen Arbeiten für bestimmte Geometrien von steifen Proteinen [32] gefunden werden. Das geänderte Modenspektrum der Membran in Anwesenheit bestimmter Proteine konnte ebenfalls in Experimenten beobachtet werden [33, 34]

Die geänderten Membranfluktuationen können sich auf die Diffusion der Proteine auswirken. Nimmt man zunächst an, dass die Membran kaum durch die Proteine gestört wird, ergibt sich aufgrund der Projektion in eine Beobachtungsebene eine Reduktion der Diffusionskonstante [35]. Für ausgedehnte Proteine führen die zusätzlichen stochastischen Kräfte durch die Membran zu einer Erhöhung der Diffusion [36], bei geeigneter Anregung von Membranwellen können die Proteine sogar auf diesen Wellen reiten [37]. Für größere Einflüsse der Proteine auf die Membrandynamik reduziert sich die effektive Diffusionskonstante wieder auf Werte kleiner als die freie Diffusion [38]. Bei genauer Untersuchung der Membrandynamik können bei Membranen, bei denen durch ein Dichtefeld eine spontane Krümmung induziert wird, mehrere Zeitregime identifiziert werden [39]. Die Einflüsse auf die einzelnen Moden können in diesem Modell auch zu Membraninstabilitäten führen. Lässt man zusätzlich einen Teilchenaustausch mit der Umgebung zu, können noch mehr Zeitskalen gefunden werden [40]. Die Einschlüsse sind in beiden Fällen steife Objekte.

In den bisher aufgeführten analytischen Betrachtungen wurden Wechselwirkungen zwischen einzelnen Proteinen nicht berücksichtigt. Solche Wechselwirkungen können zu einer Gruppierung unterschiedlicher Proteine führen. Diese Gebilde werden oft als Rafts oder Cluster bezeichnet. Aus experimentellen Daten ist die Neigung bestimmter Proteine zur Bildung solcher Cluster bekannt [41, 15], deren Diffusion meist stark reduziert ist [14]. Zusätzlich gibt es erste Versuche die Wechselwirkungen zu messen [42]. Erste theoretische

Erklärungsansätze für die Clusterbildung lieferte die Analyse der fluktuationsinduzierten Aggregation von steifen Membraneinflüssen [43] und der Bestimmung von langreichweitigen Kräften zwischen Einschlüssen [44]. Meist wird die Wechselwirkung auf unterschiedliche Dicken von Membran und Einschluss zurückgeführt [45]. In einer theoretischen Arbeit wurde auch die fluktuationsinduzierte Wechselwirkung zwischen zwei steifen Scheiben, ähnlich dem *Casimir*-Effekt, untersucht [46].

Diese Arbeit setzt nun an mehreren Punkten an. Zum einen wird sowohl analytisch als auch mit Simulationen untersucht, wie ein ausgedehntes, biegsames und frei diffundierendes Protein mit einer spontanen Krümmung die Membrandynamik beeinflusst. Die dabei bei den Höhen-Höhen-Korrelationen auftretenden Änderungen werden zusammen mit den beobachteten Zeitregimen ausführlich analysiert und eine effektive Biegesteifigkeit der Membran abgeleitet. Die Kopplung der Membrandynamik auf die Diffusion des Proteins wird numerisch bestimmt und eine quantitative Methode zur Berechnung, welche über die aus [38] bekannte Methode hinaus geht, vorgestellt. Zum anderen werden für zwei gleiche Proteine die effektiven Wechselwirkungskräfte bestimmt und weitere Einflüsse auf die Membrandynamik analysiert. Die Wechselwirkung kann je nach gewählten Proteineigenschaften anziehend oder abstoßend sein. Für zwei Proteine wird die Diffusion für die zwei Grenzfälle, geringer und großer Proteinabstand, aus Simulationen bestimmt. Für geringe Abstände zeigt sich durch die Wechselwirkung eine korrelierte Bewegung der beiden Proteine. Diese kann über eine Erweiterung der zuvor bestimmten quantitativen Methode auf die Schwerpunktsbewegung der Proteine beschrieben werden. Je nach Stärke der Anziehung ist auch eine Simulation der Clusterlebensdauer möglich.

Die einzelnen Kapitel sind wie folgt gegliedert: Zunächst werden die notwendigen Grundlagen für die Betrachtung von Membranen und der projizierten Proteindiffusion eingeführt. Daran schließen die Kapitel über das verwendete Modellsystem mit den verwendeten Bewegungsgleichungen und die Umsetzung in den Simulationen an. Danach folgt eine ausführliche Analyse für ein eingebettetes Protein in der Membran und die Wirkung auf die Membrandynamik bzw. die Proteindiffusion. Dazu wird eine Abschätzung für die quantitative Größe der Diffusion präsentiert. Im nächsten Teil wird die effektive Wechselwirkung zwischen zwei Proteinen in der Membran untersucht, um hierdurch weitere Aussagen zum Modenspektrum und der Proteindiffusion treffen zu können. Dabei wird auch auf den Einfluss des Proteinabstandes auf die zuvor betrachteten Größen eingegangen, bevor zum Ende des Abschnitts eine Lebensdauer für Proteincluster präsentiert wird. Zum Abschluss werden die beiden Fälle, ein und zwei Proteine, miteinander verglichen und ein Ausblick auf weitere interessante Aspekte gegeben.

2 Allgemeine Grundlagen

2.1 Langevin-Gleichung

Während eines Experiments mit Pollen in einer wässrigen Lösung entdeckte Robert *Brown* 1827 eine zufällige Bewegung der Pollen. Richtigerweise erkannte er diese Bewegung als passiven Prozess, welcher durch stochastische Stöße mit dem umgebenden Medium hervorgerufen wird (Abb. 2.1). Die Bewegung der Pollen kann über eine Gleichung im *Newton*'schen Sinne beschrieben werden, hier explizit in einer Dimension [48]:

$$m\dot{v} = -\frac{1}{\mu}v + \zeta(t) + f_K. \quad (2.1)$$

Die stochastische Kraft $\zeta(t)$, die konservative Kraft f_K , die Mobilität μ und die Geschwindigkeit v wirken direkt auf die zeitliche Änderung der Geschwindigkeit \dot{v} . Diese *Newton*'sche Gleichung mit zusätzlichem stochastischen Anteil wird als *Langevin*-Gleichung bezeichnet. Der eindimensionale Fall kann leicht, durch Aufstellen weiterer Gleichungen für die zusätzlichen Dimensionen, als eine mehrdimensionale Gleichung

$$\dot{v}_i = -\frac{1}{m}\mu_{ij}^{-1}v_j + \frac{1}{m}(\zeta_i(t) - f_K) \quad (2.2)$$

erweitert werden. Dabei wird die Mobilität zu einem Tensor μ_{ij} , mit den Raumrichtungen $i, j = x, y, z$. In den Grundlagen werden die Gleichungen für den ein-dimensionalen Fall eingeführt. Werden im weiteren Verlauf die mehrdimensionalen Gleichungen benötigt, werden diese Gleichungen mit Indizes geschrieben, wobei der Faktor n_{dim} für die Anzahl der Dimensionen steht. Die Lösung der Differentialgleichung (2.1) erhält man durch einen Separationsansatz formal zu

$$v(t) = v_o \exp\left\{-\frac{1}{m\mu}t\right\} + \int_0^t d\tau \frac{1}{m} [\zeta(\tau) - f_K(\tau)] \exp\left\{-\frac{1}{m\mu}(t - \tau)\right\}, \quad (2.3)$$

mit der Anfangsgeschwindigkeit v_o zur Zeit $t = 0$.

Damit Berechnungen mit der stochastischen Kraft $\zeta(t)$ durchgeführt werden können, werden die Eigenschaften der stochastischen Kräfte genauer erläutert. Die stochastischen



Abbildung 2.1 *Brown*'sche Bewegung von Pollen im Lichtmikroskop [47].

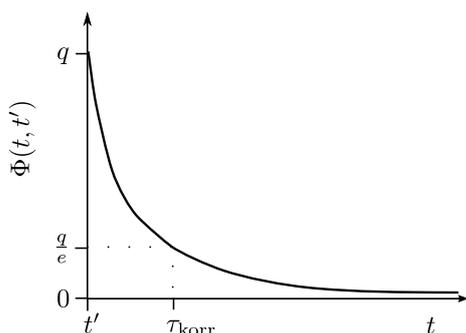


Abbildung 2.2 Korrelationsfunktion $q\Phi(t, t')$. Nach einer Zeit $\tau_{\text{korr}} = t - t'$ sind die Korrelationen auf q/e abgefallen. Diese Zeit entspricht der Zeitskala, auf der die Korrelationen zerfallen.

Kräfte haben eine zufällige Stärke und Richtung. Zudem sind sie nicht korreliert, d.h. die stochastischen Kräfte hängen nicht von anderen, früheren Kräften im System ab. Aus diesen Bedingungen kann sofort die erste Eigenschaft

$$\langle \zeta(t) \rangle = 0, \quad (2.4)$$

gefolgert werden. Für das quadratische Mittel erhält man zu gleichen Zeiten einen von Null verschiedenen Wert q , welcher die Stärke der Korrelation angibt. Für verschiedene Zeiten t, t' können die Kräftequadrate im Mittel wegen der nicht vorhandenen zeitlichen Korrelation keinen Beitrag leisten. Die Zeitabhängigkeit kann über eine δ -Funktion ausgedrückt werden, und man erhält die zweite wichtige Eigenschaft:

$$\langle \zeta(t) \zeta(t') \rangle = q\delta(t - t'). \quad (2.5)$$

Natürlich ist die δ -Abhängigkeit der Zeit nur eine Näherung. Streng genommen wird die Zeitabhängigkeit durch eine Funktion $\Phi(t, t')$ beschrieben. Diese nicht näher spezifizierte Funktion fällt auf der Zeitskala τ_{korr} ab, siehe Skizze 2.2. Ist nun die Zeitauflösung in der Art, dass τ_{korr} kleiner als die kleinste auflösbare Zeitdifferenz ist, stellt die δ -Funktion eine sehr gute Näherung dar. Im Fall der in dieser Arbeit verwendeten stochastischen Kräfte kann diese Näherung immer angenommen werden. Des Weiteren sind die verwendeten Kräfte durch eine *Gauß*-Verteilung bestimmt.

2.2 Fokker-Planck-Gleichung

Die *Fokker-Planck*-Gleichung (FP-Gleichung) ist eine zur *Langevin*-Gleichung äquivalente Gleichung zur Beschreibung von stochastischen Prozessen. Im Gegensatz zur *Langevin*-Gleichung, die auf Kräften beruht, baut die FP-Gleichung auf Wahrscheinlichkeitsdichten auf. In diesem Abschnitt wird die Herleitung einer FP-Gleichung für einen Prozess skizziert, welcher nur von der Übergangswahrscheinlichkeit $p(x, t + \tau; x', t)$ abhängig ist. Diese Übergangswahrscheinlichkeit beschreibt die Wahrscheinlichkeit, ein Teilchen, das sich zur Zeit t am Ort x' befindet, zu einer Zeit $t + \tau$ an einem anderen Ort x anzutreffen. Die Wahrscheinlichkeit, überhaupt ein Teilchen zur Zeit t am Ort x' zu finden, wird mit $P(x', t)$ bezeichnet. Mit diesen Definitionen kann nun die zeitliche Entwicklung der Aufenthaltswahrscheinlichkeit formal angegeben werden:

$$P(x, t + \tau) = \int_{-\infty}^{+\infty} dx' p(x, t + \tau; x', t) P(x', t). \quad (2.6)$$

Ist die betrachtete Zeitdifferenz τ ausreichend klein, so werden sich die Orte x' und x nur durch eine kurze Ortsdifferenz $\Delta x \equiv x' - x$ unterscheiden. Setzt man diese Definition der Ortsdifferenz in die obige Gleichung ein, kann eine *Taylor*-Entwicklung in $-\Delta x$ um den Nullpunkt durchgeführt werden. Damit ergibt sich

$$P(x, t+\tau) = \int_{-\infty}^{+\infty} d\Delta x \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-\Delta x)^n}{n!} \partial_x^n \{p(x+\Delta x, t+\tau; x, t) P(x', t)\}. \quad (2.7)$$

Eine weitere Schreibweise dieser Gleichung

$$P(x, t+\tau) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n!} \partial_x^n \{M^{(n)}(x, t+\tau; t)\} \quad (2.8)$$

erhält man durch Einführen von Momenten

$$M^{(n)}(x, t+\tau; t) = \int_{-\infty}^{+\infty} d\Delta x (\Delta x)^n P(x+\Delta x, t+\tau; x, t). \quad (2.9)$$

Diese entsprechen den Mittelwerten $\langle (\Delta x)^n \rangle$ der Ortsdifferenz.

Eine analoge Darstellung, hier in Indexschreibweise mit $i = x, y, z$, kann über die Abkürzung

$$D_i^{(n)} = \frac{1}{n!} \frac{d}{dt} M^{(n)}(t) \Big|_{t=0} \quad (2.10)$$

erhalten werden. $D_i^{(n)}$ bezeichnet die *Kramers-Moyal*-Entwicklungskoeffizienten (KMEK). Dazu wird die Definition der KMEK in (2.8) eingesetzt. Berücksichtigt man zudem, dass die KMEK auch für den Fall zusätzlich wirkender konservativer Kräfte für $n > 2$ verschwinden [49], so ergibt sich die FP-Gleichung

$$\partial_t P(\mathbf{x}, t) = \partial_i D_i^{(1)} P(\mathbf{x}, t) + \partial_i \partial_j D_{ij}^{(2)} P(\mathbf{x}, t). \quad (2.11)$$

2.3 Von der Fokker-Planck-Gleichung zu einer Langevin-Gleichung

In diesem Abschnitt wird die Äquivalenz der beiden Beschreibungsformen für stochastische Prozesse gezeigt. Dazu wird eine Vorschrift für den Übergang einer FP-Gleichung zu einer *Langevin*-Gleichung ohne weitere Herleitung vorgestellt. Diese Vorschrift entspricht der Definition von stochastischen Prozessen durch Stratonovich [49, 50]. Der Übergang dieser beiden Gleichungen ist nicht eindeutig und hängt von der Definition der Koeffizienten der *Langevin*-Gleichung ab. Im Weiteren wird eine Langevin-Gleichung der Form

$$\partial_t x_i = H_i(\mathbf{r}, t) + G_{ij}(\mathbf{r}, t) \Gamma_j(t), \quad (2.12)$$

mit der stochastischen Kraft $\Gamma_i(t)$, angenommen. Die stochastische Kraft $\Gamma_i(t)$ ist in Bezug auf die unterschiedlichen Raumrichtungen unkorreliert und entspricht den Bedingungen

für weißes Rauschen (2.4) und (2.5) mit der Stärke $q = 2$. Die restlichen Bestandteile der Stärke der Korrelationen sind bereits in $G_{ij}(\mathbf{r}, t)$ enthalten. Mit diesen Bedingungen erhält man die Korrelation der stochastischen Kraft zu

$$\langle \Gamma_i(t) \Gamma_j(t') \rangle = 2\delta(t-t') \delta_{i,j}. \quad (2.13)$$

Über die KMEK können die Koeffizienten wie folgt bestimmt werden:

$$G_{ij} = \sqrt{D^{(2)}_{ij}} \quad (2.14)$$

$$H_i = D_i^{(1)} - \sqrt{D^{(2)}_{kj}} \partial_k \sqrt{D^{(2)}_{ij}}. \quad (2.15)$$

Die Wurzel ist über $D_{ij}^{(2)} = \sqrt{D^{(2)}_{il}} \sqrt{D^{(2)}_{lj}}$ definiert und kann über die Wurzel der Eigenwerte von $D_{ij}^{(2)}$ bestimmt werden. Eingesetzt in die allgemeine *Langevin*-Gleichung (2.12) erhält man eine Langevin-Gleichung

$$\partial_t x_i = D_i^{(1)} - \sqrt{D^{(2)}_{kj}} \partial_k \sqrt{D^{(2)}_{ij}} + \sqrt{D^{(2)}_{ij}} \Gamma_j(t), \quad (2.16)$$

welche nun explizit von den KMEK abhängt.

2.4 *pre-averaging*-Näherung

In vielen thermodynamischen Systemen treten Situationen auf, in denen Integrationen über stochastische Größen ausgeführt werden müssen. Dabei sind in den meisten Fällen nur die Mittelwerte bzw. Korrelationsfunktionen dieser Größen bekannt. An einem kleinen Beispiel wird kurz erläutert, wie über eine sogenannte *pre-averaging*-Näherung dennoch Ergebnisse erzielt werden können. Sei

$$C(t) = \int_0^t d\tau a(\tau) b(\tau) \quad (2.17)$$

eine Funktion, welche von einer Funktion $a(\tau)$ und einer stochastischen Variablen $b(\tau)$ abhängig ist. Die Skalen τ_a und τ_b , auf denen die jeweiligen Prozesse ablaufen, sollen sich dabei um mehrere Größenordnungen unterscheiden. Laufen die stochastischen Prozesse deutlich schneller ab, $\tau_a \gg \tau_b$, so kann man annehmen, dass die stochastische Variable auf der längeren Zeitskala eine sehr große Zahl unterschiedlicher Werte angenommen hat, während die andere Funktion nahezu konstant geblieben ist. In diesem Fall ist es gerechtfertigt für $b(\tau)$ den eventuell bekannten Mittelwert $\langle b(\tau) \rangle$ zu verwenden

$$C(t) = \int_0^t d\tau a(\tau) \langle b(\tau) \rangle \quad (2.18)$$

und die Integration über den Mittelwert auszuführen.

3 Membranen

3.1 Biologische und mechanische Eigenschaften

In der Biologie werden die Trennwände zwischen den einzelnen Zellbestandteilen und die Hülle der Zelle als Membran bezeichnet. Je nach Aufgabe der Membran beinhaltet diese unterschiedliche Moleküle, welche für die funktionellen Eigenschaften verantwortlich sind. Ein Cartoon einer Membran ist in Abbildung 3.1 zu sehen. Zu den funktionellen Molekülen zählen unter anderem Kanäle für Ionen und Nährstoffe, sowie Rezeptoren für Signalwege. Diese können aus der Membran herausragen, die Membran komplett oder teilweise verdrängen oder an bestimmte Lipide in der Membran ankoppeln. Die Membran an sich besteht aus unterschiedlichen amphiphilen Lipiden, welche der Membran, je nach Konzentration und Zusammensetzung, unterschiedliche mechanische und physikalische Eigenschaften verleihen. Durch das amphiphile Verhalten der Lipide ordnen sich die Lipide in einer wässrigen Umgebung in zwei Schichten an, deren hydrophobe Seite einander zugewandt ist. Diese Anordnung wird in der Literatur als Lipid-Doppelschicht-Membran (Lipid Bilayer Membrane) bezeichnet und wurde zuerst von *Gorter* und *Gendel* [51] experimentell durch Auflösen von Roten Blutkörperchen beobachtet. Eine solche Membran ohne weitere Einschlüsse eignet sich hervorragend, um die grundlegenden Eigenschaften von Lipid-Membranen zu studieren. Auf die genaue Beschreibung der unterschiedlichen Aggregatzustände wie kristallin und fluid wird hier verzichtet, da bis auf wenige Ausnahmen alle Membranen überhalb der Raumtemperatur als flüssig gelten können. Kristallin bezieht sich in diesem Kontext auf die nahezu kristalline Anordnung der hydrophoben Kohlenwasserstoffketten der Lipide bei niedrigen Temperaturen. Mit fluid oder flüssig bezeichnet man hingegen die Eigenschaft der Lipide beliebig ihre Plätze in der Lipidschicht tauschen zu können. Dies wird später auch für die eingebetteten Proteine gelten [52]. Die mechanischen Eigenschaften der Membran wie die Biegesteifigkeit und eine effektive Oberflächenspannung werden im Folgenden näher erläutert.

Die mechanischen Eigenschaften der Membran beruhen auf den direkten Wechselwirkungen der Lipide untereinander und mit der umgebenden Flüssigkeit [54]. Die genaue Art und Stärke der Wechselwirkung wird hierbei nicht direkt betrachtet, sondern die Größen analog zur technischen Mechanik abgeleitet.

Die Biegesteifigkeit der Membran kann man sich wie bei einem Stab vorstellen, welcher unter einer Kraft gebogen wird. Die hierbei geleistete elastische Verformungsenergie

$$E_B = \kappa R \tag{3.1}$$

ist dabei proportional zu einer Materialkonstante κ und in erster Näherung zur Krümmung R^{-1} der Membran. In Abbildung 3.2(a) ist eine Skizze dazu dargestellt. In dieser Skizze wird die Ursache der Biegesteifigkeit veranschaulicht. Die Lipide erhalten je nach Biegung unterschiedlich viel Freiraum, wodurch sie aus ihrem Gleichgewichtsabstand ausgelenkt werden und eine Rückstellkraft erfahren.

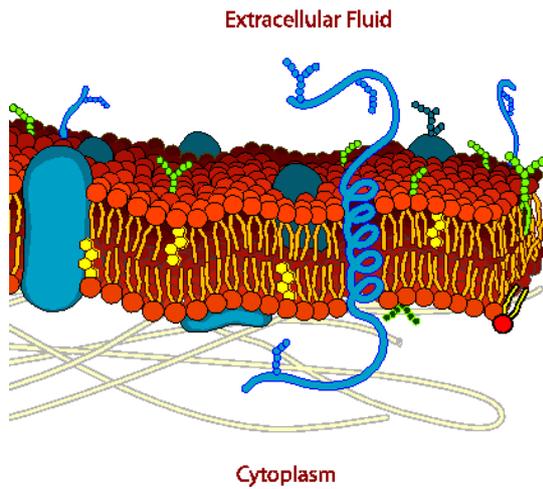


Abbildung 3.1 Beispiel einer biologischen Membran mit unterschiedlichen Lipiden, Proteinen und Anbindung an das darunter liegende Cytoskelett. Die Proteine und Lipide können sich nahezu frei entlang der Membran bewegen. In Analogie an eine Flüssigkeit in der sich die Moleküle ebenfalls frei bewegen können, wird von einer fluiden Membran gesprochen. Entnommen aus [53].

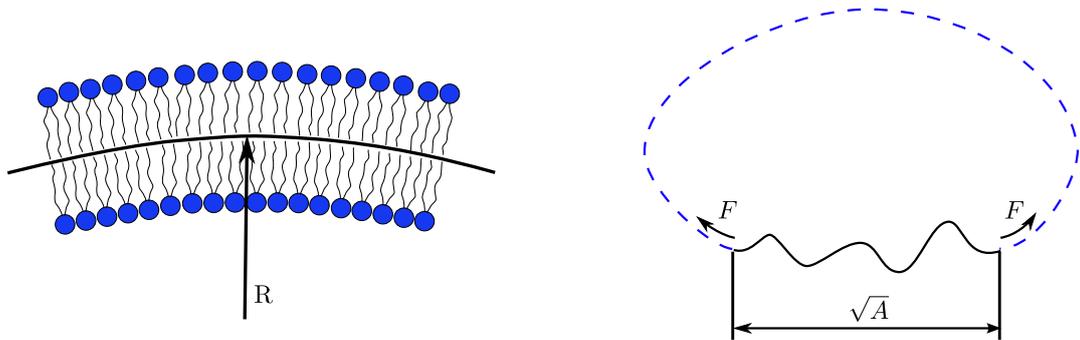
Entgegen der Biegesteifigkeit ist die Oberflächenspannung keine echte Spannung im mechanischen Sinne. Hier wird die Oberflächenspannung als effektive Größe eingeführt, welche sich aus der Wellenstruktur einer thermisch angeregten Membran ableitet. Diese Wellenstruktur verstärkt sich mit der Umgebungstemperatur. Durch Anlegen von Kräften an den Rändern der Membran können die Wellen wieder gedämpft werden, entsprechend der Oberflächenspannung einer Wasseroberfläche. Die benötigte Energie

$$E_O = \sigma \Delta A \quad (3.2)$$

ist direkt proportional zur Flächenänderung ΔA und der Materialkonstanten σ , welche im Folgenden als effektive Oberflächenspannung bezeichnet wird. Die Kräfte werden je nach experimenteller Realisierung direkt an die Membran angelegt oder es werden Vesikel verwendet. Bei der Verwendung von Vesikeln (Abb 3.2(b)) wird nur ein Teilstück des Vesikels betrachtet; dabei generiert die Krümmung des restlichen Vesikels die Kräfte an den Rändern des beobachteten Membranteilstücks.

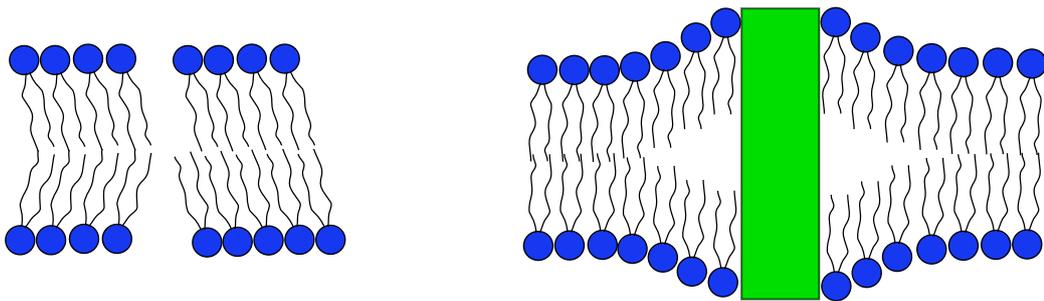
Weitere Eigenschaften von Membranen, welche durch Einschlüsse in Kombination mit der Dicke der Membran hervorgerufen werden, werden in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt. Dazu zählt das Schrägstellen der Lipide (tilt) und die hydrophobe Fehlanpassung (hydrophobic mismatch). Beide Begriffe sind selbsterklärend in den Skizzen 3.2(c) und 3.2(d) dargestellt.

Da beim Ableiten der mechanischen Eigenschaften der eigentliche Aufbau der Membran in die Materialkonstanten einfließt, kann man die Membran als eine zwei-dimensionale Fläche mit verschwindender Dicke ansehen. Für eine derart abstrahierte Membran wird in den folgenden Abschnitten eine mathematische Beschreibung für die Krümmung und daraus ein mathematisches Modell für eine Modellmembran entwickelt.



(a) Skizze zur Biegesteifigkeit

(b) Skizze zur Oberflächenspannung



(c) Skizze zum Schrägstellen

(d) Skizze zur Fehlanpassung

Abbildung 3.2 In der Abbildung sind vier unterschiedliche Situationen dargestellt, welche die mechanischen Eigenschaften beschreiben bzw. beeinflussen können. Dazu zählt die Biegesteifigkeit (a), verursacht durch zusammenpressen/auseinanderziehen der Lipide und der damit verbundenen Auslenkung aus der Gleichgewichtslage. Die nebenstehende Skizze zur Oberflächenspannung (b) zeigt ein Vesikel, gestrichelt dargestellt, von dem nur ein kleiner quadratischer Bereich A betrachtet wird. Aufgrund der Krümmung des Vesikels greifen an den Rändern des betrachteten Teilstücks Kräfte an, über die sich eine effektive Oberflächenspannung ableiten lässt. Die unten stehenden Skizzen beschreiben den Fall von schräg stehenden Lipiden (c), auch tilt genannt, und die Anpassung der Lipide (d) an Objekte mit von einer von der Gleichgewichtslage der Lipide verschiedenen Dicke (hydrophobic mismatch).

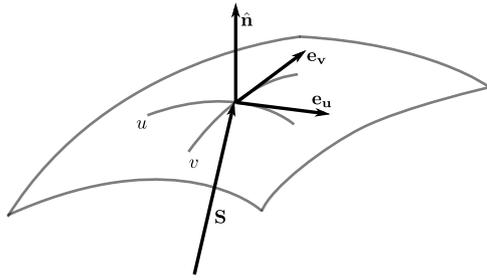


Abbildung 3.3 Darstellung einer gekrümmten Fläche im drei-dimensionalen Raum. Die Fläche ist durch v, u parametrisiert und jeder Punkt kann über einen Ortsvektor $\mathbf{S}(u, v)$ erreicht werden. Die Tangentenvektoren \mathbf{e}_i sind gleichzeitig die neuen Basisvektoren, deren Kreuzprodukt dem Normalenvektor $\hat{\mathbf{n}}$ entspricht.

3.2 Gekrümmte Oberflächen

Eine biologische Membran wird durch thermische Fluktuationen und weitere deterministische Kräfte ständig in Bewegung sein. Dies führt zu einer gewellten Oberfläche, wie sie die abstrahierte theoretische Modellmembran auch aufweisen soll. Die dabei auftretenden Krümmungen werden im Folgenden mathematisch greifbar gemacht [55]. Dazu betrachtet man eine im drei-dimensionalen Raum eingebettete Fläche, entsprechend Abbildung 3.3. Die Fläche sei dabei über $\mathbf{S}(x, y, z)$ vollständig bestimmt. Im Allgemeinen kann solch eine Fläche mit zwei geeigneten Parametern $u(x, y, z)$ und $v(x, y, z)$ entlang der Fläche parametrisiert werden. Mit Hilfe dieser Parameter kann man die Tangentenvektoren

$$\mathbf{e}_u \equiv \partial_u \mathbf{S} \quad \mathbf{e}_v \equiv \partial_v \mathbf{S} \quad (3.3)$$

an einem festen Punkt $\mathbf{S}(u, v)$ formal bestimmen. Diese neuen Basisvektoren \mathbf{e}_i dürfen eine beliebige Länge aufweisen. Ihr Skalarprodukt liefert zudem die Definition der Einträge

$$g_{ij} \equiv \mathbf{e}_i \cdot \mathbf{e}_j \quad (3.4)$$

des Metrikensors, mit $i, j = x, y, z$. Auf ähnliche Weise kann auch der Krümmungstensor \underline{H} mit seinen Tensorelementen

$$H_{ij} \equiv (\partial_i \partial_j \mathbf{S}) \cdot \hat{\mathbf{n}} \quad (3.5)$$

bestimmt werden, wobei

$$\hat{\mathbf{n}} \equiv \frac{\mathbf{e}_u \times \mathbf{e}_v}{|\mathbf{e}_u \times \mathbf{e}_v|} \quad (3.6)$$

der normierte Normalenvektor am Ort (u, v) ist. Aus dem Krümmungstensor kann unter Hinzunahme des inversen Metrikensors g^{ij} die mittlere Krümmung

$$H = -\frac{1}{2} \text{sp}(g^{ik} H_{kj}) \quad (3.7)$$

über die Spur des Tensorprodukts berechnet werden. Des Weiteren kann durch den Metrikensor das neue Flächenelement

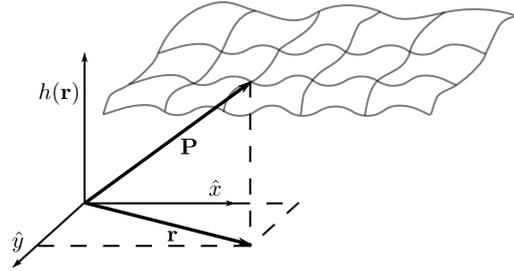
$$dA \equiv \sqrt{g} \, du \, dv \quad (3.8)$$

der parametrisierten Membran angegeben werden. Hierfür wurde die Metrik

$$g \equiv \det(g_{ij}) \quad (3.9)$$

eingeführt.

Abbildung 3.4 Membran in Monge-Darstellung. Ein Punkt \mathbf{P} in der Membran wird in dieser Darstellung durch einen Ortsvektor $\mathbf{r}(x, y)$ und die Entfernung $h(\mathbf{r}, t)$ von dieser Referenzebene beschrieben.



3.3 Monge-Darstellung

In der *Monge*-Darstellung wird ein Punkt im drei-dimensionalen Raum durch zwei Koordinaten, hier x , y , und eine Funktion $z = f(x, y)$, welche von den zwei Koordinaten x, y abhängig ist, ausgedrückt. Überträgt man dies auf Membranen, welche in die Ebene projiziert beobachtet werden, so bietet sich die (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene als Referenzfläche an. Punkte auf dieser Referenzfläche können durch die x -, y -Koordinate eindeutig bestimmt werden. Die dritte Komponente in z -Richtung entspricht nun der Auslenkung aus dieser Referenzebene und wird als Höhe $h(x, y)$ interpretiert. Fasst man x, y zu einem Vektor $\mathbf{r} \equiv (x, y)^T$ zusammen, so kann ein beliebiger Membranpunkt $\mathbf{P} = (\mathbf{r}, h(\mathbf{r}))$ über die projizierte Position \mathbf{r} in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene und die Entfernung zur Ebene $h(\mathbf{r})$ beschrieben werden, wie in Abbildung 3.4 ersichtlich. Diese Form der Beschreibung der Membran über ein Auslenkungsfeld aus der Projektionsebene wird in der gesamten Arbeit verwendet, da die hier betrachteten Membranen nahezu flach sind und keine Ausstülpungen aufweisen.

Bei der Einführung der mittleren Krümmung H im vorherigen Abschnitt wurde diese für eine beliebig gekrümmte Fläche in einer beliebigen Darstellung hergeleitet. Für spätere Rechnungen wird diese allgemeine Bestimmung der Krümmung auf die *Monge*-Darstellung übertragen. Die gesuchten Größen können leicht anhand der Gleichungen im Abschnitt 3.2 berechnet werden. Dazu wird zuerst die Abkürzung $h_i \equiv \partial_i h(\mathbf{r})$ eingeführt, wodurch die Basisvektoren

$$\mathbf{B}_0 = \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ h_x \end{pmatrix} \quad \mathbf{B}_1 = \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \\ h_y \end{pmatrix} \quad (3.10)$$

direkt angegeben werden können. Sind diese Basisvektoren bekannt, kann der Tensor der Metrik

$$\underline{g} = \begin{pmatrix} 1 + h_x^2 & h_x h_y \\ h_x h_y & 1 + h_y^2 \end{pmatrix} \quad (3.11)$$

bestimmt werden. Dasselbe gilt auch für den Krümmungstensor

$$\underline{H} = \frac{1}{\sqrt{g}} \begin{pmatrix} h_{xx} & 0 \\ 0 & h_{yy} \end{pmatrix} \quad (3.12)$$

mit der Metrik

$$g = 1 + h_x^2 + h_y^2. \quad (3.13)$$

Mit diesen Größen kann die mittlere Krümmung

$$2H = g^{-\frac{2}{3}} \left(h_{xx} + h_{yy} + h_y^2 h_{xx} + h_x^2 h_{yy} - 2h_{xy} h_x h_y \right) \quad (3.14)$$

sofort berechnet werden. Dieses Ergebnis ist noch für beliebig große Krümmungen gültig. Fordert man jedoch kleine Krümmungen, wie sie bei flachen Membranen auftreten, kann die Krümmung in Näherung [56] als

$$2H = -\nabla^2 h \left\{ 1 + \mathcal{O}[(\nabla h)^2] \right\} \quad (3.15)$$

angegeben werden. Die Summe der Krümmungen ist hier zu $\nabla^2 h = h_{xx} + h_{yy}$ umgeschrieben.

3.4 Helfrich-Energie

Die bereits vorgestellte Biege- und Oberflächenspannungsenergie nutzte *Helfrich* 1973 bei der Herleitung der Freien Energie von Membranen \mathcal{H} [29]. Dabei konnte er zeigen, dass sich die Biegeenergie pro Fläche

$$\mathcal{H}_B = \kappa (2H - C_0)^2 \quad (3.16)$$

über die mittlere Krümmung H und die Biegesteifigkeit κ ausdrücken lässt. Eine eventuell vorhandene spontane Krümmung der gesamten Membran wird über C_0 berücksichtigt. Zusätzlich zur Biegeenergie wird noch die Energie der effektiven Oberflächenspannung pro Fläche

$$\mathcal{H}_O = \sigma \frac{\Delta A}{A}, \quad (3.17)$$

hervorgerufen durch die Flächenänderung ΔA und der Fläche A verknüpft mit der effektiven Oberflächenspannung σ , zur Gesamtenergie

$$\mathcal{H} = \frac{1}{2} \int_{L^2} d\mathbf{r} \left[\kappa (2H - C_0)^2 + \sigma \frac{\Delta A}{A} \right] \quad (3.18)$$

hinzugefügt und über die gesamte Membran aufintegriert. Diese Gleichung kann bei beliebig großen Krümmungen verwendet werden. Bei der Beschreibung der *Monge*-Darstellung wurde schon auf flache Membranen eingegangen und die daraus resultierende Relevanz der Darstellung für das untersuchte System. Daher wird die *Helfrich*-Energie in die *Monge*-Darstellung überführt. Dazu werden die mittlere Krümmung (3.15) und das Flächenelement (3.8) in die *Helfrich*-Energie (3.18) eingesetzt. Die resultierende Gleichung für die *Helfrich*-Energie in *Monge*-Darstellung lautet:

$$\mathcal{H}_0 = \int_{L^2} d\mathbf{r} \left[\frac{\kappa}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) \right)^2 + \frac{\sigma}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}} h(\mathbf{r}, t) \right)^2 \right]. \quad (3.19)$$

In späteren Kapiteln wird die *Helfrich*-Energie meist in ihrer *Fourier*-Form verwendet. In dieser Darstellung entkoppeln die einzelnen Moden und können getrennt voneinander berechnet werden. Unter Verwendung der *Fourier*-Transformationen

$$\begin{aligned} h(\mathbf{k}, t) &\equiv \mathcal{F} \{h(\mathbf{r}, t)\} \equiv \int_{L^2} d\mathbf{r} h(\mathbf{r}, t) \exp \{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}\} \\ h(\mathbf{r}, t) &\equiv \mathcal{F}^{-1} \{h(\mathbf{k}, t)\} \equiv \frac{1}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} h(\mathbf{k}, t) \exp \{i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}\} \end{aligned} \quad (3.20)$$

ergibt sich die *Helfrich*-Energie der Mode \mathbf{k} mit der Wellenzahl $k = |\mathbf{k}|$ zu

$$\mathcal{H}_0 = \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2} (\kappa k^4 + \sigma k^2) h(\mathbf{k}, t) h^*(\mathbf{k}, t). \quad (3.21)$$

3.5 Membrandynamik

Bisher ist die Membran als starres gekrümmtes Objekt behandelt worden. Natürlich wird die Membran durch Kräfte aus dem umgebenden Medium ständig in Bewegung versetzt. Die entsprechende Gleichung für die Dynamik wird nun abgeleitet.

Durch das umgebende Medium wird die Membran durch hydrodynamische Wechselwirkungen beeinflusst. Diese Wechselwirkungen können bei den betrachteten Längenskalen durch die *Stokes*-Gleichung

$$\nabla p - \eta \nabla^2 \mathbf{v} = \mathbf{f} \quad (3.22)$$

beschrieben werden [49], wobei hier die Inkompressibilität von Wasser auf diesen Skalen vorausgesetzt wird. Die Gleichung gibt das Kräftegleichgewicht aus Druck p , der Reibungskraft $\eta \nabla^2 \mathbf{v}$ und einer äußeren Kraft \mathbf{f} an. Die Reibungskraft ist hierbei von der Viskosität η und der Geschwindigkeit \mathbf{v} abhängig. Die *Greens*-Funktion der *Stokes*-Gleichung, der *Oseen*-Tensor, hat im Ortsraum die Form

$$\Lambda(\mathbf{x} - \mathbf{x}') = \frac{1}{8\eta\pi} \frac{1}{|\mathbf{x} - \mathbf{x}'|} \left(1 + \frac{(\mathbf{x} - \mathbf{x}') : (\mathbf{x} - \mathbf{x}')}{(\mathbf{x} - \mathbf{x}')^2} \right), \quad (3.23)$$

mit dem Dyadischen Produkt $(\mathbf{x} - \mathbf{x}') : (\mathbf{x} - \mathbf{x}')$. Über den gefundenen *Oseen*-Tensor kann die Geschwindigkeit

$$\mathbf{v}(\mathbf{x}, t) = \int_{L^2} d\mathbf{x}' \Lambda(\mathbf{x} - \mathbf{x}') \mathbf{f}(\mathbf{x}') \quad (3.24)$$

an einem Ort \mathbf{x} im Raum durch alle auftretenden Kräfte an den Orten \mathbf{x}' ausgedrückt werden. Das resultierende Geschwindigkeitsfeld beschreibt die Strömung im Wasser. Trifft die Strömung auf die Membran, wird eine entsprechende Kraft auf die Membran wirken. Da die Membran in fluider Phase keine Scherkräfte aufnehmen kann, wirkt einzig eine Kraft in \hat{z} -Richtung. Dabei kann man davon ausgehen, dass die Membran in dieser Richtung die Geschwindigkeit der Strömung annimmt. Aufgrund der Eigenschaften der *Monge*-Darstellung kann diese Komponente mit der Höhe $h(\mathbf{r}, t)$ identifiziert werden.

Die auftretenden Kräfte können einerseits von der Membranbewegung $\delta\mathcal{H}/\delta h$, zum anderen von thermischen Fluktuationen $\boldsymbol{\xi}(\mathbf{r}, t)$ durch das Bad verursacht werden. Zusammen erhält man eine *Langevin*-Gleichung für die Membrandynamik:

$$\partial_t h(\mathbf{r}, t) = - \int_A d\mathbf{r}' \Lambda(\mathbf{r} - \mathbf{r}') \cdot \left[\frac{\delta\mathcal{H}[h(\mathbf{r}, t)]}{\delta h(\mathbf{r}', t)} \right] + \boldsymbol{\xi}(\mathbf{r}, t). \quad (3.25)$$

Die Korrelationen der stochastischen Fluktuationen $\boldsymbol{\xi}(\mathbf{r}, t)$ beinhalten bereits den *Oseen*-Tensor, dies wird bei der später folgenden Bestimmung deutlich.

Bei späteren Berechnungen und Simulationen wird die Membrandynamik ausschließlich in der *Fourier*-Darstellung verwendet. Hierzu wird die *Fourier*-Darstellung des *Oseen*-Tensors

$$\Lambda(k) = \frac{1}{4\eta k}. \quad (3.26)$$

benötigt. In dieser Darstellung divergiert der Ausdruck für $k = 0$, dies muss bei späteren Rechnungen und Simulationen beachtet werden. Um zu einer *Fourier*-Darstellung für (3.25) zu gelangen wird zuerst die Funktionalableitung gebildet. Die resultierende Gleichung kann dann unter Ausnutzung einer Faltung in den *Fourier*-Raum überführt werden, und man erhält

$$\partial_t h(\mathbf{k}, t) = -\Lambda(k) E(k) h(\mathbf{k}, t) + \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, t), \quad (3.27)$$

mit der Abkürzung

$$E(k) \equiv \kappa k^4 + \sigma k^2. \quad (3.28)$$

Die Lösung dieser Differentialgleichung für die einzelnen Höhenmoden

$$h(\mathbf{k}, t) = \exp\{-\gamma(k) t\} \left(h(\mathbf{k}, 0) + \int_0^t d\tau \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \exp\{\gamma(k) \tau\} \right) \quad (3.29)$$

wird über einen Separationsansatz berechnet. In dieser Gleichung ist $E(k)$ und $\Lambda(k)$ zu

$$\gamma(k) \equiv E(k) \Lambda(k) \quad (3.30)$$

zusammengefasst. In den Gleichungen bezeichnet ξ die stochastische Kraft auf die Membran, welche bereits die hydrodynamischen Wechselwirkungen beinhalten. Der quadratische Mittelwert der stochastischen Kraft im k -Raum kann schnell bestimmt werden. Aus dem Äquipartitionsprinzip lässt sich die mittlere Energie pro Mode

$$\langle \mathcal{H}_0[h(\mathbf{k}, t)] \rangle = \frac{E(k)}{2L^2} \langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t) \rangle \stackrel{!}{=} \frac{k_b T}{2} \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \quad (3.31)$$

ableiten. Damit steht auch das quadratische Mittel der Membranhöhe

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t) \rangle = \frac{k_b T}{E(k)} L^2 \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \quad (3.32)$$

fest. Über die Lösung der Membrangleichung (3.29) wird dieser Mittelwert ebenfalls berechnet. Hierzu wird die Lösung quadriert und das Mittel gebildet. Verwendet man zudem die Beziehungen für weißes Rauschen

$$\langle \xi(\mathbf{k}, t) \rangle = 0 \quad (3.33)$$

$$\langle \xi(\mathbf{k}, t) \xi(\mathbf{k}', t') \rangle = q \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \delta(t - t'), \quad (3.34)$$

mit der noch unbestimmten Stärke q , erhält man

$$\begin{aligned} \langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle &= \exp\{-\gamma(k)(t+t')\} \langle h(\mathbf{k}, 0) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle \\ &+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' q \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \delta(t - t') \exp\{-\gamma(k)(t+t' - \tau - \tau')\}. \end{aligned} \quad (3.35)$$

Nach Ausführung der Integrationen und eines Grenzübergangs $t, t' \rightarrow \infty$ vereinfacht sich diese Gleichung zu

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle = \frac{1}{2\gamma(k)} q \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \exp\{-\gamma(k)|t - t'|\}. \quad (3.36)$$

Setzt man die beiden Ergebnisse für $\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t) \rangle$, bei gleichen Zeiten $t = t'$, gleich, so kann direkt die Stärke $q = 2k_b T \Lambda(k) L^2 \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \delta(t - t')$ abgelesen werden. Mit diesem Ergebnis können die Korrelationen angegeben werden:

$$\langle \xi(\mathbf{k}, t) \rangle = 0 \quad (3.37)$$

$$\langle \xi(\mathbf{k}, t) \xi(\mathbf{k}', t') \rangle = 2k_b T \Lambda(k) L^2 \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \delta(t - t'). \quad (3.38)$$

Über die Beziehungen der stochastischen Kraft ergeben sich der Mittelwert der Höhenmode und der Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion zu

$$\langle h(\mathbf{k}, t) \rangle = 0 \quad (3.39)$$

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle = \frac{L^2}{\beta E(k)} \exp\{-\gamma(k)|t - t'|\}. \quad (3.40)$$

Diese Funktion wird exponentiell gedämpft. Die Größe $\gamma(k)$ ist hier als eine Abklingrate zu verstehen auf deren Zeitskala

$$\tau_M(k) \equiv 1/\gamma(k) \quad (3.41)$$

die Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion der ungestörten Membrandynamik zerfällt.

4 Diffusion

4.1 Bestimmung der Diffusionskonstanten

Zu Beginn des Kapitels über allgemeine Grundlagen wurden stochastische Kräfte und ihre Eigenschaften vorgestellt. Die Einführung wurde mit den zufälligen Bewegungen von Pollen in Wasser begründet. Es wurde allerdings nicht auf die Stärke dieser Kräfte eingegangen. Dies wird in diesem Kapitel nachgeholt und eine Verknüpfung mit der Diffusionskonstante abgeleitet. Zur Bestimmung der Stärke wird mit der allgemeinen Lösung der *Langevin*-Gleichung (2.3) das quadratische Mittel der Geschwindigkeit für eine Raumrichtung berechnet:

$$\begin{aligned}
 \langle v(t) v(t') \rangle &= \langle v_o^2 \rangle \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} (t+t')\right\} + \\
 &+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \frac{1}{m} \langle \zeta(\tau) \zeta(\tau') \rangle \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} (t+t'-\tau-\tau')\right\} \\
 &+ v_0 \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} t\right\} \int_0^{t'} d\tau' \frac{1}{m} \langle \zeta(\tau') \rangle \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} (t'-\tau')\right\} \\
 &+ v_0 \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} t'\right\} \int_0^t d\tau \frac{1}{m} \langle \zeta(\tau) \rangle \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} (t-\tau)\right\}. \quad (4.1)
 \end{aligned}$$

Mit den Beziehungen für stochastische Kräfte (2.4) und (2.5) können die Integrationen leicht ausgeführt werden, und man erhält

$$\langle v(t) v(t') \rangle = \langle v_o^2 \rangle \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} (t+t')\right\} + \frac{\mu}{2m} q \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} |t-t'|\right\}. \quad (4.2)$$

Im thermodynamischen Gleichgewichtszustand ergibt sich durch einen Grenzübergang $t, t' \gg m\mu$

$$\langle v(t) v(t') \rangle = \frac{\mu}{2m} q \exp\left\{-\frac{1}{m\mu} |t-t'|\right\}. \quad (4.3)$$

Hieraus ist ersichtlich, dass das mittlere Geschwindigkeitsquadrat proportional zur Stärke q der thermischen Fluktuationen ist. Wie erwartet spielt auch die Anfangsgeschwindigkeit v_0 schnell keine Rolle mehr. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass obwohl die stochastischen Kräfte keine zeitliche Korrelation aufweisen, das mittlere Geschwindigkeitsquadrat auf einer Zeitskala $m\mu$ korreliert ist.

Um die tatsächliche Stärke der Fluktuationen zu bestimmen wird noch ein Ergebnis aus der klassischen Mechanik benötigt. Laut Äquipartitionsprinzip hat jeder Freiheitsgrad die

mittlere Energie $k_b T/2$. Die mittlere Energie der Pollen ist vollständig durch die kinetische Energie gegeben. Durch Einsetzen von (4.3) erhält man die Stärke q zu

$$q = 2k_b T/\mu. \quad (4.4)$$

und damit die Korrelationsfunktion der stochastischen Kräfte

$$\langle \zeta(t) \zeta(t') \rangle = \frac{2k_b T}{\mu} \delta(t - t') \quad (4.5)$$

für eine *Brown'sche* Bewegung. Da Teile der Berechnungen über die FP-Gleichung deutlich einfacher sind, wird noch der KMEK für $n = 2$ mit den stochastischen Kräften verknüpft. Dieser Koeffizient $D^{(2)}$ wird als Diffusionskoeffizient bezeichnet. Aus dem Kapitel zur FP-Gleichung ist bekannt, dass dieser Koeffizient mit dem mittleren Abstandsquadrat verknüpft ist, siehe Kap. 2.2. Das Abstandsquadrat kann über die Integration der Geschwindigkeit v über die Zeit erhalten werden. Für große Zeiten ergibt sich

$$\langle (x(t) - x_0)^2 \rangle = 2\mu k_b T t. \quad (4.6)$$

Die Mobilität μ ist über die *Einstein-Beziehung* mit der Diffusionskonstanten

$$D = \mu k_b T \quad (4.7)$$

verknüpft. Damit erhält man die Diffusionsgleichung zu

$$\langle (\mathbf{x}(t) - \mathbf{x}_0)^2 \rangle = 2 \cdot (n_{\text{dim}}) \cdot \underline{D} t, \quad (4.8)$$

mit der Anzahl n_{dim} an relevanten Dimensionen und der Diffusionsmatrix \underline{D} .

4.2 Diffusion auf gekrümmten Oberflächen

In den bisher vorgestellten Gleichungen zur Diffusion wurde immer stillschweigend von einer Diffusion in der Ebene ausgegangen. Wie im Kapitel über Membranen bereits angesprochen, können Membranen nur in den seltensten Fällen wirklich als glatte Ebenen angenommen werden. Eine genauere Betrachtung des Einflusses der Membranfluktuationen auf die Diffusionskonstante wurde von Reister et al. [35, 57] durchgeführt. Da die dort vorgestellte Projektion der Diffusion in eine Ebene parallel zur Membran in dieser Arbeit verwendet wird, werden die Grundzüge dieser Betrachtungen verkürzt vorgestellt. Eine Skizze des projizierten Pfades befindet sich in Abbildung 4.1.

In einer FP-Gleichung ohne konservative Kräfte wird der *Laplace-Operator* durch den *Laplace-Beltrami-Operator* [50] ersetzt. Dieser neue Operator berücksichtigt die Krümmung der Membran, und die neue FP-Gleichung

$$\partial_t P'(x, y, t) = D \sum_{i,j} \frac{1}{\sqrt{g}} \partial_i \sqrt{g} g^{ij} \partial_j P'(x, y, t) \quad (4.9)$$

beschreibt die Diffusion in einer gekrümmten Fläche mit der Metrik g (3.9) und dem metrischen Tensor g^{ij} (3.4). $P'(x, y, t)$ bezeichnet nun die Wahrscheinlichkeit das diffundierende

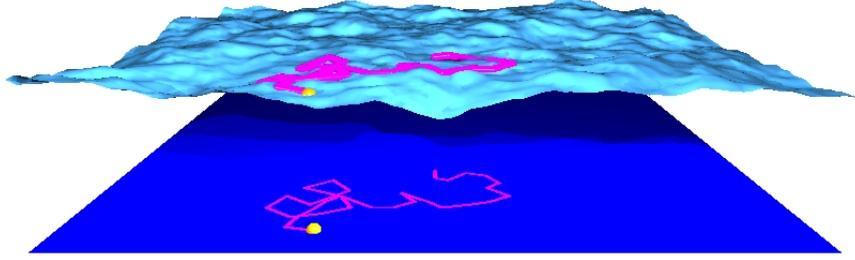


Abbildung 4.1 Projizierte Diffusion in eine Referenzebene, wie sie in vielen Experimenten verwendet wird. Je nach Krümmung der Oberfläche wird sich die Länge des Pfades lateral zur Membran deutlich von der Länge des projizierten Pfades unterscheiden.

Objekt zu einer Zeit t an einem Ort $\mathbf{P}(\mathbf{r}, h(\mathbf{r}, t))$ in der Membran zu finden. Wie üblich wird diese Wahrscheinlichkeit, mit dem entsprechenden Flächenelement $\sqrt{g} \, dx dy$, auf eins normiert:

$$\int_A P'(x, y, t) \sqrt{g} \, dx dy = 1. \quad (4.10)$$

Diese Wahrscheinlichkeit wird in die (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene projiziert, ist nun aber durch das veränderte Flächenelement nicht mehr auf eins normiert. Eine erneute Normierung auf das Flächenelement der Ebene $dx dy$ und der Vergleich mit der nicht projizierten Wahrscheinlichkeit $P'(x, y, t)$ liefert die Beziehung

$$P(x, y, t) = \sqrt{g} P'(x, y, t). \quad (4.11)$$

Eingesetzt in die FP-Gleichung (4.9) erhält man

$$\partial_t P(x, y, t) = D \sum_{i,j} \partial_i \sqrt{g} g^{ij} \partial_j \frac{1}{\sqrt{g}} P(x, y, t). \quad (4.12)$$

Diese Gleichung gibt die zeitliche Änderung der Wahrscheinlichkeit $P(x, y, t)$ an, das Objekt an einem projizierten Ort $\mathbf{R}(t)$ in der (\hat{x}, \hat{y}) -Ebene zu finden. Diese FP-Gleichung kann über die allgemeine Vorschrift (2.16) in je eine *Langevin*-Gleichung für die x - und y -Komponente

$$\begin{aligned} \partial_t X(t) &= D \frac{1}{g(\sqrt{g} + 1)} (h_Y h_{XY} - h_X h_{YY}) \\ &\quad + \sqrt{D} \frac{1}{g-1} \left[\left(\frac{h_X^2}{\sqrt{g}} + h_Y^2 \right) \zeta_X(t) + h_X h_Y \left(\frac{1}{\sqrt{g}} - 1 \right) \zeta_Y(t) \right] \\ \partial_t Y(t) &= D \frac{1}{g(\sqrt{g} + 1)} (h_X h_{XY} - h_Y h_{XX}) \\ &\quad + \sqrt{D} \frac{1}{g-1} \left[h_X h_Y \left(\frac{1}{\sqrt{g}} - 1 \right) \zeta_X(t) + \left(\frac{h_Y^2}{\sqrt{g}} + h_X^2 \right) \zeta_Y(t) \right] \end{aligned} \quad (4.13)$$

überführt werden. In diesen Gleichungen bezeichnet $\mathbf{R}(t) = \mathbf{R}(X(t), Y(t))$ den Ort des Objekts in der Ebene. Die stochastischen Kräfte $\zeta_i(t)$ erfüllen für jede Komponente die Beziehungen für weißes Rauschen. Die Ableitungen von h werden dabei jeweils am Ort $\mathbf{R} = (X, Y)^T$ des diffundierenden Objekts benötigt. Zudem kann die Gleichung in einen diffusiven Anteil

$$\begin{aligned}\partial_t X_{\text{diff}}(t) &= +\sqrt{D} \frac{1}{g-1} \left[\left(\frac{h_X^2}{\sqrt{g}} + h_Y^2 \right) \zeta_X(t) + h_X h_Y \left(\frac{1}{\sqrt{g}} - 1 \right) \zeta_Y(t) \right] \\ \partial_t Y_{\text{diff}}(t) &= +\sqrt{D} \frac{1}{g-1} \left[h_X h_Y \left(\frac{1}{\sqrt{g}} - 1 \right) \zeta_X(t) + \left(\frac{h_Y^2}{\sqrt{g}} + h_X^2 \right) \zeta_Y(t) \right]\end{aligned}\quad (4.14)$$

und eine Drift

$$\begin{aligned}\partial_t X_{\text{drift}}(t) &= D \frac{1}{g(\sqrt{g}+1)} (h_Y h_{XY} - h_X h_{YY}) \\ \partial_t Y_{\text{drift}}(t) &= D \frac{1}{g(\sqrt{g}+1)} (h_X h_{XY} - h_Y h_{XX})\end{aligned}\quad (4.15)$$

aufgeteilt werden. Diese Drift ist für sich ungewöhnlich, da bei Rechnungen mit einer allgemeinen FP-Gleichung ohne zusätzliche Kräfte keine Drift auftritt. Die auftretende Drift wird oft auch als „spurious drift“ bezeichnet [49] und wird hier durch die Projektion verursacht. Dies wurde in [57] genauer analysiert.

Teil II

Modellsystem und Simulationsmethode

5 Modell

5.1 Modellsystem

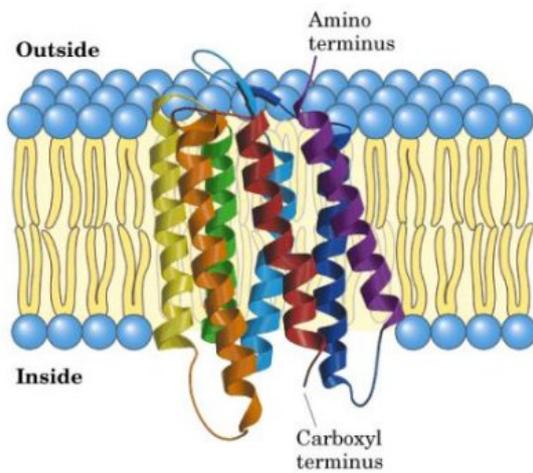


Abbildung 5.1 Schema eines BR-Proteins in einer Lipidmembran [58].

In dieser Darstellung soll auch das Protein im Modell von der Membran umschlossen sein und an seiner Position die Lipide verdrängen. Entgegen der realen biologischen Gegebenheiten wird die Membran in der vorliegenden Arbeit als ein zweidimensionales und quadratisches Objekt mit der Fläche L^2 angenommen. Die Membran soll zudem nahezu flach sein. Diese Näherungen gepaart mit der Einführung von zwei Parametern, der Biegesteifigkeit κ und der effektiven Oberflächenspannung σ , genügen zu einer Beschreibung der Membran in *Monge*-Darstellung (siehe Abschnitt 3.4):

Wie in der Einleitung bereits aufgezeigt, spielt die Krümmung von Molekülen bei der Diffusion eine entscheidende Rolle. Als prominentestes Beispiel wird hier nochmals das Protein Bakteriorhodopsin (BR) aufgegriffen. Bei diesem Molekül ändert sich beim Pumpvorgang die beobachtete Diffusionsrate [15], aber auch die Krümmung [59]. Um den Einfluss der Krümmung auf die Diffusion genauer zu untersuchen, wird in diesem Abschnitt ein Modell entwickelt, welches hauptsächlich von den geometrischen Eigenschaften eines Proteins abgeleitet wird. In Abbildung 5.1 ist das Protein Bakteriorhodopsin, eingebettet in die Modellmembran, schematisch dargestellt. Wie

$$\mathcal{H}_0[h(\mathbf{r}, t)] = \int_{L^2} d\mathbf{r} \frac{\kappa}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) \right)^2 + \frac{\sigma}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}} h(\mathbf{r}, t) \right)^2. \quad (5.1)$$

In dieser Gleichung bezeichnet $h(\mathbf{r}, t)$ die Höhenauslenkung eines Membranortes $(\mathbf{r}, h(\mathbf{r}, t))^T$ aus der Projektionsebene mit dem projizierten Ort $\mathbf{r} = (x, y)^T$, siehe Skizze in Abbildung 3.4. Die betrachtete Modellmembran ist jedoch kein starres Objekt, sondern befindet sich in einer wässrigen Umgebung, durch die sie einerseits thermischen Fluktuationen ausgesetzt ist und zum anderen durch hydrodynamische Wechselwirkungen mit dem Medium beeinflusst wird. Die hydrodynamischen Wechselwirkungen können durch den *Oseen*-Tensor (siehe Abschnitt 3.5) bestimmt werden. Damit kann die zeitliche Höhenänderung der Mem-

bran $h(\mathbf{r}, t)$ für einen Membranort \mathbf{r} wie folgt beschrieben werden:

$$\partial_t h(\mathbf{r}, t) = - \int_{L^2} d\mathbf{r}' \Lambda(\mathbf{r}-\mathbf{r}') \left[\frac{\delta \mathcal{H}[h]}{\delta h(\mathbf{r}', t)} \right] + \boldsymbol{\xi}(\mathbf{r}, t). \quad (5.2)$$

Die thermischen Fluktuationen $\boldsymbol{\xi}(\mathbf{r}, t)$ in dieser Gleichung enthalten bereits die hydrodynamischen Wechselwirkungen. Mit Hilfe des Fluktuations-Dissipations-Theorems können die Korrelationen der stochastischen Kraft

$$\langle \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \rangle = 0 \quad (5.3)$$

$$\langle \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', \tau') \rangle = \frac{2(2\pi)^2}{\beta} \Lambda(k) \delta(\tau - \tau') \delta(\mathbf{k} + \mathbf{k}') \quad (5.4)$$

im *Fourier*-Raum, mit dem *Oseen*-Tensor $\Lambda(k)$ (3.26), bestimmt werden.

Nachdem nun die Eigenschaften und die Dynamik der einbettenden Membran bestimmt sind, wenden wir uns den Eigenschaften des Proteins zu. Das Modellprotein soll eine Fläche πa_p^2 mit dem Radius a_p einnehmen. Diese Fläche wird über die Ausdehnungsfunktion $G(\mathbf{r}-\mathbf{R})$ festgelegt, deren genaue Form später bestimmt wird, wobei $\mathbf{R} \equiv (X, Y)^T$ den Ort des Proteins in der Projektionsebene bezeichnet. Auf dieser Fläche hat das Protein eine Biegesteifigkeit m und eine spontane Krümmung C_p . Zum besseren Verständnis sind die Größen in der Skizze (5.2) eingezeichnet. Wie bereits erwähnt, ersetzt das Protein ein Stück Membran, welches nun aus der Gesamtenergie des Systems abgezogen werden muss. Gleichzeitig wird der Beitrag des Proteins hinzugefügt. Dieser Beitrag kann analog zur *Helfrich*-Energie \mathcal{H}_0 (3.21) abgeleitet werden und führt auf den Korrekturterm für ein Protein

$$\mathcal{H}_1[h(\mathbf{r}, t), \mathbf{R}(t)] = \int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r}-\mathbf{R}) \left[\frac{m}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) - C_p \right)^2 - \frac{\kappa}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) \right)^2 \right]. \quad (5.5)$$

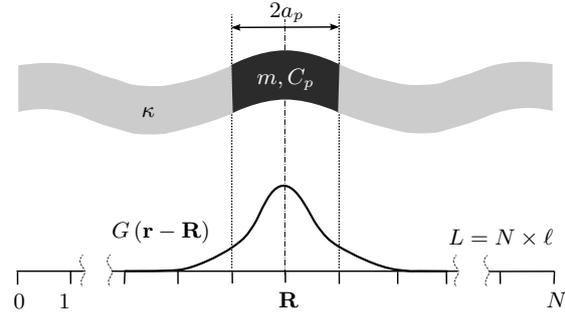
Die Gesamtenergie des Systems besteht aus der Summe der beiden vorgestellten Terme

$$\mathcal{H}_{1T} \equiv \mathcal{H}_0 + \mathcal{H}_1. \quad (5.6)$$

Für die weiteren Rechnungen ist es erforderlich, der Ausdehnungsfunktion $G(\mathbf{r}-\mathbf{R})$ eine konkrete Form zu geben. Aus Experimenten [60, 61] ist bekannt, dass Proteine auf oder in der Membran auch auf die umliegende Membran eine gewisse Wirkung haben. Es ist daher naheliegend, zunächst einen weichen Übergang zwischen Membran und Protein anzunehmen und diesen später gegebenenfalls durch eine veränderte Ausdehnungsfunktion neu zu definieren. Aufgrund der guten mathematischen Handhabbarkeit wird die Ausdehnungsfunktion als *Gauß*-Funktion angenommen. Die Breite der *Gauß*-Funktion wird so gewählt, dass die Ausdehnungsfunktion im Abstand a_p vom Proteinort \mathbf{R} auf $1/e$ abgefallen ist. Des weiteren wird die Funktion dahingehend normiert, dass die Integration über die gesamte Projektionsebene die Fläche des Proteins πa_p^2 ergibt,

$$N \int_{-\infty}^{\infty} d\mathbf{r} \exp \left\{ - \frac{(\mathbf{r}-\mathbf{R})^2}{a_p^2} \right\} \stackrel{!}{=} \pi a_p^2. \quad (5.7)$$

Abbildung 5.2 Ein-dimensionaler Schnitt durch das Modellprotein am Ort $\mathbf{R}(t)$ mit der Biegesteifigkeit m , der spontanen Krümmung C_p und Fläche πa_p^2 in einer Modellmembran mit der Biegesteifigkeit κ . Die Membran wird in den Simulationen auf ein zwei-dimensionales Gitter der Größe $L \times L$ mit der Gitterkonstanten ℓ übertragen. Die Ausdehnung des Proteins wird über eine Ausdehnungsfunktion $G(\mathbf{r}-\mathbf{R})$ bestimmt.



Hieraus kann nun die Ausdehnungsfunktion zu

$$G(\mathbf{r}-\mathbf{R}) \equiv \exp\left\{-\frac{(\mathbf{r}-\mathbf{R})^2}{a_p^2}\right\} \quad (5.8)$$

bestimmt werden.

Nachdem die Ausdehnungsfunktion festgelegt ist, kann, mit der Definition der *Fourier*-Transformation (3.20), auch die *Helfrich*-Energie für ein Protein im *Fourier*-Raum

$$\begin{aligned} \mathcal{H}_{1T}[h(\mathbf{k}, t)] &= \frac{\kappa}{2} \frac{1}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') L^2 \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}'} \\ &+ \frac{m - \kappa}{2} \frac{\pi a_p^2}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \times \\ &\times \exp\{-i\mathbf{R} \cdot (\mathbf{k} + \mathbf{k}')\} \exp\left\{-\frac{a_p^2}{4} (\mathbf{k} + \mathbf{k}')^2\right\} \\ &- \frac{\pi a_p^2 m C_p}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} k^2 h(\mathbf{k}, t) \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \\ &+ \frac{\pi a_p^2 m C_p^2}{2} \end{aligned} \quad (5.9)$$

berechnet werden. Eine ausführlichere Rechnung der *Fourier*-Transformation befindet sich im Anhang A.1. In dieser Gleichung treten im 2. Term für $m \neq \kappa$ die Doppelsummen aus den \mathbf{k} - und \mathbf{k}' -Vektoren auf. Jedoch kann entgegen dem ersten Term keine einfache analytische Beziehung zwischen diesen beiden Vektoren angegeben werden. Die auftretende Matrix K mit den Elementen

$$K_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} = \exp\{-i\mathbf{R} \cdot (\mathbf{k} + \mathbf{k}')\} \exp\left\{-\frac{a_p^2}{4} (\mathbf{k} + \mathbf{k}')^2\right\} \quad (5.10)$$

kann nur unter hohem Aufwand analytisch diagonalisiert werden. Aus diesem Grund wird in den analytischen Rechnungen stets der Spezialfall $m = \kappa$ untersucht, in welchem dieser Term verschwindet. In den Simulationen kann die Summation über \mathbf{k}' problemlos durchgeführt werden und die Einschränkung für die Wahl der Biegesteifigkeit des Proteins m, β

entfällt.

5.2 Resultierende Bewegungsgleichungen

Der zusätzliche Beitrag zur Bewegungsgleichung der Membran $h_{CC}(\mathbf{k}, t)$ ergibt sich durch Einsetzen von \mathcal{H}_1 in die Gleichung der allgemeinen Membrandynamik (3.25). Die bereits in den *Fourier*-Raum transformierte Gleichung ergibt sich damit zu

$$\begin{aligned} \partial_t h_{CC}(\mathbf{k}, t) &= -(m - \kappa) \Lambda(k) \mathcal{F} \left\{ \nabla_{\mathbf{r}}^2 \left[G(\mathbf{r} - \mathbf{R}) \nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) \right] \right\} - \\ &\quad - \Lambda(k) m C_p \pi a_p^2 k^2 \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \end{aligned} \quad (5.11)$$

$$\begin{aligned} &= + \frac{m - \kappa}{L^4} \pi a_p^2 \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}', t') K_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \\ &\quad - \frac{\pi a_p^2 m C_p}{L^2} k^2 \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\}. \end{aligned} \quad (5.12)$$

In den Simulationen wird die obere Gleichung (5.11) verwendet, da die numerische *Fourier*-Transformation \mathcal{F} für spätere Erweiterungen vorteilhafter ist. Zusammen mit dem Term der ungestörten Membrandynamik (3.27) erhält man die komplette Membrandynamik zu

$$\partial_t h(\mathbf{k}, t) = \partial_t h_{\text{frei}}(\mathbf{k}, t) + \partial_t h_{CC}(\mathbf{k}, t) + \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, t). \quad (5.13)$$

Für die Bewegungsgleichung des Proteins ist entscheidend, dass die Kräfte, welche am Ort des Proteins auf die Membran gewirkt hätten, nun auf das Protein selbst wirken. Diese Kräfte können aus der Energie \mathcal{H} , durch Bilden des Gradienten nach \mathbf{R} , erhalten werden. Zusammen mit der Mobilität μ ergibt sich ein zusätzlicher Term

$$\partial_t \mathbf{R}_{CC}(t) = -\mu \nabla_{\mathbf{R}} \mathcal{H}_1 \quad (5.14)$$

in der *Langevin*-Gleichung des Proteins, nachfolgend ausgeschrieben in *Fourier*-Darstellung

$$\begin{aligned} \partial_t \mathbf{R}_{CC}(t) &= -\mu \frac{\pi a_p^2 m C_p}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} i \mathbf{k} k^2 h(\mathbf{k}, t) \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \\ &\quad - \mu \frac{m - \kappa}{2} \frac{\pi a_p^2}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} i (\mathbf{k} + \mathbf{k}') k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') K_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'}. \end{aligned} \quad (5.15)$$

Gemeinsam mit der *Langevin*-Gleichung für die projizierte, freie Diffusion (4.13) kann die Proteindynamik über die Gleichung

$$\partial_t \mathbf{R}(t) = \partial_t \mathbf{R}_{CC}(t) + \partial_t \mathbf{R}_{\text{drift}}(t) + \boldsymbol{\zeta}(\mathbf{r}, t) \quad (5.16)$$

bestimmt werden.

Mit diesen beiden gekoppelten Gleichungen (5.13) und (5.16) ist die Dynamik des Systems vollständig beschrieben.

6 Simulationsmethode

In diesem Kapitel wird die Simulationsmethode vorgestellt. In der Simulation werden die Bewegungsgleichungen der Membran (5.13) und der Proteindynamik (5.16) numerisch aufintegriert. Um den Rechenaufwand zu verringern, wird die kontinuierliche Membran auf

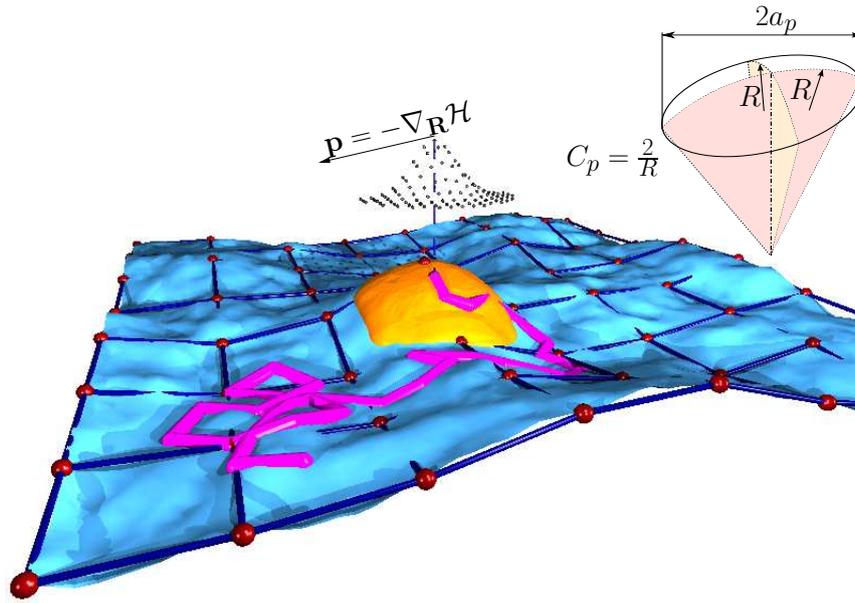


Abbildung 6.1 Schema des Proteins in der diskretisierten Membran

ein periodisches, quadratisches Gitternetz mit der Kantenlänge $L = N \times \ell$, mit der Anzahl Gitterpunkte N und der Gitterkonstanten ℓ abgebildet. Dies ist möglich, da die Membran auf der Längenskala von ℓ sehr steif ist und für die untersuchten Effekte kürzere Längen nur eine geringe Rolle spielen. Durch diese Abbildung auf ein Gitter müssen nur noch die Höhenänderungen der $N \times N$ Gitterpunkte berechnet werden. Um die Dynamik der Membran durch Integration zu berechnen, muss diese zuvor diskretisiert werden. Dies geschieht durch Einführen des diskreten Zeitschritts Δt . Dieser muss später entsprechend klein gewählt werden, um die Dynamik für die kürzeste Zeitskala der Membran $\tau_M(k_{\max})$ aus Gleichung (3.40) ausreichend zu erfassen. Um den Rechenaufwand weiter zu minimieren werden die Berechnungen im *Fourier*-Raum ausgeführt. Hier können die einzelnen *Fourier*-Moden $h(\mathbf{k}, t)$, mit den Wellen-Vektoren

$$\mathbf{k} = \frac{2\pi}{L} \begin{pmatrix} n_x \\ n_y \end{pmatrix}, \quad (6.1)$$

und der *Oseen*-Tensor $\Lambda(k)$ geschickt berechnet werden. n_i bezeichnet in ganzen Zahlen die Abstände der Gitterpunkte auf dem Gitter, welche von $-\frac{N}{2} - 1$ bis $\frac{N}{2}$ durchnummeriert

sind. Entwickelt man die Membrandynamik um diesen Zeitschritt Δt , so erhält man die diskrete Version von Gleichung (5.13):

$$h(\mathbf{k}, t + \Delta t) = h(\mathbf{k}, t) + \Delta t \partial_t h_{\text{frei}}(\mathbf{k}, t) + \Delta t \partial_t h_{CC}(\mathbf{k}, t) + \sqrt{\lambda k_b T L^2 \Lambda(k)} \Delta t \mathbf{r} \cdot \begin{pmatrix} 1 \\ ai \end{pmatrix}. \quad (6.2)$$

\mathbf{r} ist ein Vektor, dessen Komponenten r_i ($i = x, y$) Gauß-verteilt sind und jeweils die Mittelwerte $\langle r_i \rangle = 0$ und $\langle r_i^2 \rangle = 1$ besitzen. λ ist eine Zahl mit den Werten 1 oder 2 und a eine Zahl mit 0 oder 1. Die Zahl λ ist nötig, da $h(\mathbf{r}, t)$ eine reelle Größe ist, woraus automatisch $h(\mathbf{k}, t) = h(-\mathbf{k}, t) = h^*(\mathbf{k}, t)$ folgt. Diese Beziehung hat zur Folge, dass die Moden $h(\mathbf{k}, t)$ für die Eckpunkte des Gitters reell sind ($a = 0$). Damit die stochastische Kraft $\boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, t) = \sqrt{\lambda k_b T L^2 \Lambda(k)} \Delta t \mathbf{r} \cdot (1, ai)^T$ auch bei $a = 0$ das Dissipations-Fluktuationstheorem erfüllt, muss $\lambda = 2$, sonst 1, gesetzt werden. In den Simulationen wird weiterhin davon ausgegangen, dass der Real- und Imaginärteil von $\boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, t)$ nicht miteinander korreliert ist.

Durch die Definition des Onsager-Koeffizienten $\Lambda(k) = 1/(4\eta k)$ (3.26) erkennt man sofort die Problematik für $\mathbf{k} = 0$. Für diesen Fall divergiert der Quotient. Da diese Mode der Schwerpunktsbewegung entspricht, kann $h(\mathbf{k} = 0, t)$ ohne weitere Einflüsse auf die untersuchte Dynamik gleich Null gesetzt werden. Die bis hier vorgestellte Methode zur Simulation der Membranbewegung entspricht im wesentlichen der von Lin und Brown [62, 63, 64] vorgestellten Methode.

Um die Rückkopplung des Proteins auf die Membrandynamik zu berechnen, stößt man auf das Problem, dass die analytische Darstellung der Rückkopplung im *Fourier*-Raum noch eine Summation über \mathbf{k}' enthält. Da für Berechnungen der Proteindynamik Ableitungen von $h(\mathbf{r}, t)$ im Ortsraum benötigt werden, werden die Berechnungen für $\Delta t \partial_t h_{CC}(\mathbf{k}, t)$ in denen die Summation auftritt im Ortsraum durchgeführt und anschließend in den *Fourier*-Raum transformiert.

Die Simulation der Proteindynamik erfolgt, entgegen der Membrandynamik, im Ortsraum. Dabei kann das Protein auch Positionen zwischen den Gitterpunkten einnehmen. Durch die Diskretisierung von Gleichung (5.16) erhält man

$$\mathbf{R}(t + \Delta t) = \mathbf{R}(t) + \Delta t \partial_t \mathbf{R}_{\text{drift}}(t) - \mu \nabla_{\mathbf{R}} \mathcal{H} \Delta t + \mu \sqrt{2\Delta t} \mathbf{s}. \quad (6.3)$$

\mathbf{s} hat, wie \mathbf{r} , Gauß-verteilte Komponenten s_i , mit den entsprechenden Mittelwerten $\langle s_i \rangle = 0$ und $\langle s_i^2 \rangle = 1$. Für die Berechnungen in dieser Gleichung sind die Ableitungen am Ort des Proteins nötig. Wie bereits erwähnt, bewegt sich das Protein kontinuierlich entlang der Membran und sitzt daher meist zwischen den Gitterpunkten. Um dennoch die Größen am Ort des Proteins zu erhalten, werden diese durch eine abstandsgewichtete, lineare Mittelung über die vier nächsten Gitterpunkte bestimmt.

Diese Gleichungen (6.2) und (6.3) werden nun immer abwechselnd ausgeführt, bis die vorgegebene Anzahl von Zeitschritten erreicht ist.

Aufgrund des modularen Aufbaus der Simulation und der Gleichungen kann die Simulation leicht um weitere Proteine erweitert werden.

Teil III

Ein diffundierendes Proteine

7 Modenspektrum

Bei der Einführung des Modellsystems wurde ein Einfluss eines eingeschlossenen Proteins auf die Membrandynamik aufgezeigt. Diese Änderungen in der Membrandynamik (5.13) führen zwangsläufig zu veränderten Mittelwerten und Korrelationen für die Membranhöhe $h(\mathbf{k}, t)$ selbst. Dieser Einfluss wird in diesem Kapitel näher untersucht. Dazu werden zunächst die Mittelwerte und Korrelationen analytisch für den Spezialfall $m = \kappa$ berechnet und anschließend mit Simulationsergebnissen, welche auch über den Spezialfall hinaus gehen, verglichen.

7.1 Analytischer Spezialfall $m = \kappa$

7.1.1 Zeitunabhängige Mittelwerte der Höhenfunktion $h(\mathbf{k}, t)$

Zur Berechnung von thermischen Mittelwerten \mathcal{M} einer Größe M im Gleichgewicht kann in kanonischen Systemen mit der Gesamtenergie E , welche von der Größe x abhängig ist, die Gleichung

$$\mathcal{M} \equiv \langle M \rangle = \frac{1}{Z'} \int \mathcal{D}[x] M \exp\{-\beta E(x)\} \quad (7.1)$$

verwendet werden. In dieser Gleichung wird über alle möglichen Realisierungen von x integriert. Dabei ist die Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Realisierung durch den Boltzmann-Faktor $\exp\{-\beta E(x)\} / Z'$, mit der Zustandssumme

$$Z' \equiv \int \mathcal{D}[x] \exp\{-\beta E\}, \quad (7.2)$$

gegeben. In dieser Form ist die Berechnung von Mittelwerten häufig nur schwer möglich. Durch eine Umformung ist es jedoch möglich, die Berechnung zu vereinfachen. Dazu erweitert man die Zustandssumme um die zu mittelnde Größe, hier αM , so

$$Z(\alpha) = \int \mathcal{D}[x] \exp\{-\beta E + \alpha M\}, \quad (7.3)$$

dass der Mittelwert über die Gleichung

$$\langle M \rangle = \frac{1}{Z(\alpha=0)} \left. \frac{\partial}{\partial \alpha} Z(\alpha) \right|_{\alpha=0}, \quad (7.4)$$

ausgedrückt werden kann. Auf diese Weise können nun nachfolgend die gesuchten Mittelwerte der Höhenfunktion $h(\mathbf{k}, t)$ gebildet werden. Dazu wird für die Energie E des Systems

die *Helfrich*-Energie \mathcal{H}_{1T} (5.9) für ein Protein eingesetzt. Zur Berechnung der Integrale können diese auf die Form von *Gauß*-Integralen gebracht werden und man erhält:

$$Z(\alpha_k) = \exp\left\{-\frac{\pi a_p^2 C_p^2 \kappa \beta}{2}\right\} \exp\left\{\sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} \frac{b(k) b(k')}{4a(\alpha_k, k)}\right\} \times \\ \times \prod_{\mathbf{k}} \int dh(\mathbf{k}, 0) \exp\left\{-\sum_{\mathbf{k}} a(\alpha_k, k) \left(h(\mathbf{k}, t) + \frac{b(k)}{2a(\alpha_k, k)}\right)^2\right\} \quad (7.5)$$

mit den Abkürzungen

$$a(\alpha_k, k) \equiv \frac{E(k)}{2L^2} - \alpha_k \quad (7.6)$$

$$b(k) \equiv \frac{\pi a_p^2}{2L^2} \kappa C_p k^2 \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\}. \quad (7.7)$$

Aus dieser Gleichung kann man die mittlere Membranauslenkung zu

$$\langle h(\mathbf{k}, 0) \rangle = \frac{\pi a_p^2 C_p}{k^2} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \langle \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \rangle \quad (7.8)$$

bestimmen. In dieser Gleichung hängt der Mittelwert $\langle h(\mathbf{k}, 0) \rangle$ noch vom Ort $\mathbf{R}(t)$ des Proteins ab. Geht man jedoch davon aus, dass das Protein für eine beliebig lange Trajektorie jeden Membranort erreichen kann, so wird für lange Mittelungsdauern $\langle \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \rangle = 0$ gelten und damit $\langle h(\mathbf{k}, 0) \rangle = 0$.

Die Höhen-Höhen-Korrelation

$$\langle h(\mathbf{k}, 0) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle = \frac{L^2}{\kappa \beta k^4} + \frac{\pi^2 a_p^4 C_p^2}{k^4} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} \quad (7.9)$$

kann ebenfalls aus der Zustandssumme gewonnen werden. Hier tritt keine explizite Ortsabhängigkeit mehr auf. Interessanterweise kann diese Korrelationsfunktion in die ungestörte Membrankorrelation $L^2 / (\kappa \beta k^4)$ (3.32) und einen Korrekturterm aufgespalten werden. Dieser Korrekturterm weist eine besondere k -Abhängigkeit auf, wodurch dieser Term nur für einen begrenzten Bereich von k -Moden, $k^2 < 2/a_p^2$, von Bedeutung ist. Obwohl somit ein großer Teil der Moden nicht durch das Protein beeinflusst werden, sind es genau die beeinflusstesten Moden, welche einen sehr großen Einfluss auf die Membrandynamik haben.

7.1.2 Zeitabhängige Mittelwerte der Höhenfunktion $h(\mathbf{k}, t)$

Im vorherigen Abschnitt ist die zeitunabhängige Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion berechnet worden. Bedingt durch die verwendete Methode sind so noch keine Aussagen über die zeitlichen Eigenschaften möglich. Eine Möglichkeit die Zeitabhängigkeit der Mittelwerte zu berechnen ist das Einsetzen der Lösung der Membrangleichung für den Spezialfall $m = \kappa$,

$$h(\mathbf{k}, t) = \exp\{-\gamma(k)t\} \left(h(\mathbf{k}, 0) + \int_0^t d\tau (\boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) - \partial_t h_{CC}(\mathbf{k}, \tau)) \exp\{\gamma(k)\tau\} \right), \quad (7.10)$$

in den gesuchten Mittelwert mit anschließendem Grenzübergang für große Zeiten. Diese Lösung kann direkt aus der *Langevin*-Gleichung (5.13) abgelesen werden. $\gamma(k)$ bezeichnet wie üblich die inverse Zeitskala der Membran (3.30). Bei der Berechnung sollte man sich jedoch ins Gedächtnis rufen, dass die stochastischen Kräfte und die daraus resultierenden Korrelationsfunktionen (5.4) durch die zusätzlichen Einflüsse des Modellproteins nicht geändert werden. Dafür kommt nun der Bewegung des Modellproteins eine entscheidende Bedeutung zu. In den nachfolgenden Rechnungen gilt $\mathbf{R}(t) \neq \mathbf{R}(t')$. Um die Rechnungen etwas übersichtlicher zu gestalten, werden noch die Abkürzungen

$$\mathbf{c}(\mathbf{k}, t) \equiv \partial_t h_{CC}(\mathbf{k}, t) = c(k) \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}(t)\} \quad (7.11)$$

$$c(k) \equiv \Lambda(k) \kappa C_p \pi a_p^2 k^2 \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \quad (7.12)$$

eingeführt. In dieser vereinfachten Notation ergibt sich die Korrelationsfunktion zu

$$\begin{aligned} \langle h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \rangle &= \langle h(\mathbf{k}, 0) h(\mathbf{k}', 0) \rangle \exp\{-\gamma(k)t - \gamma(k')t'\} \\ &+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \langle \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', \tau') \rangle \exp\{-\gamma(k)(t-\tau) - \gamma(k')(t'-\tau')\} \\ &+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \langle \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \rangle \exp\{-\gamma(k)(t-\tau) - \gamma(k')(t'-\tau')\} \\ &- \left\langle h(\mathbf{k}', 0) \exp\{-\gamma(k')t'\} \int_0^t d\tau \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \exp\{-\gamma(k)(t-\tau)\} \right\rangle \\ &- \left\langle h(\mathbf{k}, 0) \exp\{-\gamma(k)t\} \int_0^{t'} d\tau' \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \exp\{-\gamma(k')(t'-\tau')\} \right\rangle \\ &- \left\langle \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \exp\{-\gamma(k')(t'-\tau')\} \exp\{-\gamma(k)t\} \right\rangle \\ &- \left\langle \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', \tau') \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \exp\{-\gamma(k)(t-\tau)\} \exp\{-\gamma(k')t'\} \right\rangle. \end{aligned} \quad (7.13)$$

Legt man nun fest, dass der Zeitpunkt t' stets später als der Zeitpunkt t ist, so kann die Wirkung von $\mathbf{c}(\mathbf{k}, t)$ auf die zu einer späteren Zeit auftretende stochastische Kraft $\boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', t')$ zu Null gesetzt werden, da die stochastische Kraft, per Definition, nicht von anderen Kräften abhängig ist.

Falls die Zeitskala $\tau_D(k)$, auf der sich der Ort des Teilchens \mathbf{R} ändert, deutlich größer als die Zeitskala der Membran $\tau_M(k)$ ist, kann zur weiteren Berechnung der Höhen-Höhen-Korrelation eine Zeitskalenseparation (2.18) durchgeführt werden. Dies ist in den betrachteten biologischen Systemen durchweg der Fall, siehe nächster Abschnitt 7.2. Somit kann zuerst über alle Membrankonfigurationen gemittelt werden, welche bereits im vorhergehenden Abschnitt berechnet wurden. Anschließend wird eine Ensemble-Mittelung durchgeführt, wodurch nun auch für die stochastischen Kräfte die entsprechenden Mittelwerte eingesetzt werden können. Es verbleiben Terme, in denen in einigen Exponentialfunktionen

eine Ortsdifferenz auftaucht, für die im Mittel

$$\langle \exp\{-i\mathbf{k}\cdot(\mathbf{R}(t)-\mathbf{R}(t'))\} \rangle = \exp\{-D_{\text{eff}}k^2|t-t'|\}, \quad (7.14)$$

mit der effektiven Diffusionskonstanten D_{eff} , gilt. Diese und weitere Mittelungen über den Ort werden an dieser Stelle ebenfalls ausgeführt, bevor die Integrationen über die Zeit berechnet werden. Um nun zum Endergebnis

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle = \frac{L^2}{E(k)} \exp\{-\gamma(k)t\} + \frac{c^2(k)}{\gamma^2(k)} \exp\{-D_{\text{eff}}k^2t\} \quad (7.15)$$

zu gelangen, muss noch ein Grenzübergang $t, t' \rightarrow \infty$ durchgeführt werden. Der resultierende Grenzwert ist nur von der Zeitdifferenz $|t-t'|$ abhängig, in der $t' = 0$ gesetzt wird. Eine ausführliche Darstellung der Rechnungen in diesem Abschnitt befindet sich im Anhang A.2. Diese Gleichung weist nun zwei Zeitskalen auf, welche den unterschiedlichen Prozessen im System zugeordnet werden können. Der Skala der Membrandynamik $\tau_M(k)$ und der Diffusion $\tau_D(k)$:

$$\begin{aligned} \tau_M(k) &\equiv 1/\gamma(k) = \frac{4\eta}{\kappa k^3} \\ \tau_D(k) &\equiv \frac{1}{D_{\text{eff}}k^2}. \end{aligned} \quad (7.16)$$

Als Schlussbemerkung zu den unterschiedlichen Berechnungsarten der Höhen-Höhen-Korrelationen sei gesagt, dass, wie hier gezeigt, die zeitabhängige Gleichung (7.15) für $t = t' = 0$ in die bereits bekannte zeitunabhängige Gleichung (7.9) übergehen muss.

7.2 Vergleich der analytischen Rechnungen mit numerischen Simulationen

Bevor die Simulationsergebnisse vorgestellt werden, müssen noch die bei der Beschreibung der Simulationemethode (Kap. 6) eingeführten Parameter festgelegt werden. Hierfür wurden experimentelle Wertebereiche berücksichtigt [65, 28, 66]. Diese mit Einheiten behafteten Größen werden in Einheiten des Systems ausgedrückt. Als Einheiten des Systems werden die Gitterkonstante $\ell = 10\text{nm}$, die thermische Energie bei 300K $k_b T = \beta^{-1} = 4.14 \times 10^{-21}\text{J}$ und die Zeit in Sekunden verwendet.

Die Ausdehnung des Systems wird auf 64×64 Gitterpunkte festgelegt. Entgegen den biologischen Gegebenheiten wird auf die Oberflächenspannung ($\sigma\beta\ell^2 = 0$) verzichtet, welche ohnehin sehr klein ist. Diese Einschränkung hat nur einen untergeordneten Einfluss auf die untersuchten Effekte, die hauptsächlich von der spontanen Krümmung C_p und der Biegesteifigkeit der Membran κ und des Proteins m abhängen. Für die Biegesteifigkeit der Membran wird fast ausschließlich $\kappa\beta = 5$ verwendet. Das Protein hingegen kann Werte zwischen $5 \leq m\beta \leq 40$ annehmen. Der Radius des Proteins ist dabei stets $a_p = 2\ell$ und die spontane Krümmung wird zwischen $0 \leq C_p\ell \leq 1$ variiert. Die maximale Krümmung ergibt sich aus der Bedingung, dass das Protein für ein maximales C_p einer Halbschale entspricht. Somit muss $C_p = 1/R_{x,\text{max}} + 1/R_{y,\text{max}}$ mit dem Radius der Krümmung $R_{i,\text{max}} = a_p$ gelten, woraus $C_p\ell = 2\ell/a_p$ folgt. Besteht die fluide Umgebung der Membran aus Wasser,

so ist die Viskosität $\eta = \eta_{H_2O} = 2.47 \times 10^{-7} \text{ s} / (\beta \ell^3)$. Die Diffusionskonstante der Proteine wird an die Größenordnung der Diffusion von Membranproteinen [3] angelehnt und als $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2 / \text{s}$ angenommen.

Für die Bestimmung der Zeitschritte müssen einige Abschätzungen vorgenommen werden. Der Zeitschritt Δt sollte kürzer als die kürzeste Membranzeitskala $\tau_M(k_{\max})$ und die Zeitdauer sein, die das Protein im Mittel für die Strecke ℓ benötigt:

$$\Delta t < \tau_M(k_{\max}) = \frac{4\eta}{\kappa\beta k_{\max}^3} \simeq 2 \times 10^{-9} \text{ s} \quad (7.17)$$

$$\Delta t < \frac{\ell^2}{4D_0} \simeq 5 \times 10^{-6} \text{ s}, \quad (7.18)$$

woraus man $\Delta t = 1 \times 10^{-9} \text{ s}$ festlegen kann. Die Störung der Membrandynamik durch das Protein beeinflusst, wie man später sehen wird, die effektive Biegesteifigkeit der Membran κ_{eff} . Dieses κ_{eff} wird verringert, was wiederum einen größeren Zeitschritt zulassen würde.

Die Anzahl der nötigen Zeitschritte $\#ts$ kann ebenfalls leicht abgeschätzt werden. Die längste Membranzeitskala sollte deutlich kleiner als die Simulationsdauer sein, um auch die zeitliche Entwicklung der kleinen Moden ausreichend zu berücksichtigen. Zudem sollte die Simulation lang genug sein, damit das Protein möglichst viele Membranorte erreicht. Wie in den analytischen Rechnungen bereits gezeigt, fällt die Membrankorrelation auch auf der Zeitskala der Diffusion $\tau_D(k) = 1 / (k^2 D_{\text{eff}})$ ab. Um diesen Zerfall sichtbar zu machen, muss für jede Mode mindestens $1 \times \tau_D(k)$ in der Simulation beobachtbar sein. Damit erhält man die Bedingungen

$$\#ts \gg \frac{\tau_M(k_{\min})}{\Delta t} = \frac{4\eta}{\kappa\beta k_{\min}^3 \Delta t} \simeq 2 \times 10^5 \quad (7.19)$$

$$\#ts > \frac{\tau_D(k_{\min})}{\Delta t} = \frac{1}{k_{\min}^2 D_0 \Delta t} \simeq 2 \times 10^6. \quad (7.20)$$

Je nach untersuchtem Effekt werden zwischen 3×10^6 für die zeitunabhängige und 8×10^6 Zeitschritte für die zeitabhängige Höhen-Höhen-Korrelation verwendet. Die zufällige Startkonfiguration der Membran wird vor den eigentlichen Untersuchungen für 1×10^6 Zeitschritte equilibriert. Für die Mittelung über den Proteinort werden 500 Einzeltrajektorien verwendet.

7.2.1 Zeitunabhängige Höhen-Korrelationen

Nach den analytischen Rechnungen zur Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion werden diese nun mit Simulationsdaten verglichen.

Zuerst wird die mittlere Höhe bestimmt. Aus den analytischen Rechnungen wurde die Schlussfolgerung $\langle h(\mathbf{k}, t) \rangle = 0$ gezogen. In Abbildung 7.1 ist die mittlere Höhe bei $C_p \ell = 1$ und $\kappa\beta = 5$ für mehrere $m\beta$ als Funktion von k aufgetragen. Es ist zu erkennen, dass $\langle h(\mathbf{k}, t) \rangle$ tatsächlich verschwindet. Die von Null verschiedenen Werte bei kleinen k sind durch die dort zu geringe Statistik begründet, da diese längeren Zeitskalen zugeordnet sind.

Ein weiteres Ergebnis der Rechnungen, die Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion, wird zuerst im Grenzfall $t = 0$ betrachtet. Dies entspricht im Spezialfall $m = \kappa$ den analytischen

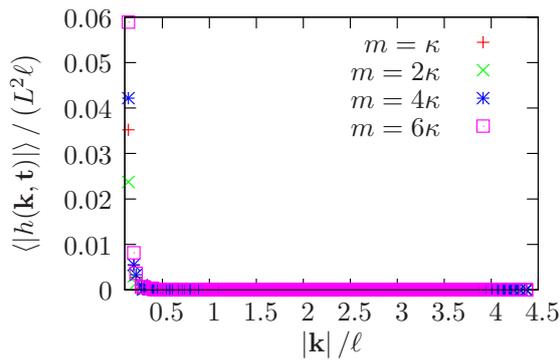


Abbildung 7.1 Einfaches Mittel der Höhen-Funktion $\langle h(\mathbf{k}, t) \rangle$ als Funktion von $k = |\mathbf{k}|$. Für $k \rightarrow 1$ verschwindet das Mittel, im Gegensatz zu kleinen k . Dies liegt jedoch mit an den zu kurzen Simulationszeiten, die für kleine k -Werte nur ca. der vierfachen der entsprechenden Zeitskala entspricht.

Ergebnissen (7.9). Um den Einfluss des Proteins auf die Membran deutlich zu machen, wird das Verhältnis gestörter zu ungestörter Membran betrachtet. Dies entspricht der Skalierung um den Faktor $E(k)/L^2$. In Abb. 7.2 ist die Höhen-Höhen-Korrelation im Spezialfall $m = \kappa$ für zwei unterschiedliche $\kappa\beta$ und im Fall $\kappa\beta = 5$ für zwei spontane Krümmungen aufgetragen. Die waagrechte Gerade entspricht der ungestörten Membran. Für steigende $m\beta$ und $C_p\ell$ wächst der Wert für die kleinsten $k\ell$ bis auf einen Faktor 1.4 an. Je näher man jedoch dem Betrag $k\ell = 1$ kommt, desto mehr nähert sich der Verlauf wie eine *Gauß*-Funktion dem Wert der ungestörten Membran an. Für $k\ell > 1$ ist die Korrelationsfunktion nicht mehr von der ungestörten Funktion zu unterscheiden. Dies ist in der Abbildung nicht dargestellt. Der analytische Kurvenverlauf und die Simulationsdaten sind nahezu deckungsgleich.

Für den allgemeineren Fall $m \neq \kappa$, aber immer noch im Grenzfall $t = 0$, ergibt sich ein qualitativ ähnliches Bild (Abb. 7.3). Die Darstellungsweise ist hier genau gleich wie im vorherigen Bild gewählt. Die einzelne analytische Linie gehört zum Spezialfall $m = \kappa$ und ist somit identisch mit den entsprechenden Simulationsdaten. Für andere $m\beta$ wurde keine analytische Kurve eingezeichnet, da die verwendete Näherung zur Berechnung von (7.9) zwingend $m = \kappa$ fordert. Für die Simulationen gilt diese Einschränkung nicht, und es können bis zu $m = 8\kappa$ Simulationsdaten erzeugt werden. Als spontane Krümmung ist $C_p\ell = 1$ gewählt. Im Plot sieht man für steigende $m\beta$ einen Zuwachs in den Mittelwerten für kleine $k\ell$, welcher mit zunehmenden $m\beta$ jedoch geringer wird. Dies führt sogar auf doppelt so große Amplituden der Höhen-Höhen-Korrelation für das maximale $m = 8\kappa$ im Vergleich zur ungestörten Membran. Wie schon im Spezialfall nähert sich auch hier für $k\ell > 1$ der Verlauf wieder dem der ungestörten Membran an.

7.2.2 Prinzip des effektiven κ

Im vorhergehenden Abschnitt wurde die veränderte zeitunabhängige Höhen-Höhen-Korrelation (7.9) durch die Summe aus ungestörter Membrandynamik und einer Störung, hervorgerufen durch das Protein, betrachtet. Dies ist aus theoretischer Sichtweise eine sehr gute Wahl, welche in Experimenten jedoch nur schwer zugänglich sein wird. Aus experimenteller Sicht ist es daher effektiver, unabhängig von den tatsächlichen Vorgängen in der Membran, die *Helfrich*-Energie (3.21) mit den Fit-Parametern κ und σ als universell für Modellmembranen anzunehmen und entsprechend auf die experimentellen Daten anzuwenden, wie in zahlreichen Publikationen geschehen [39, 33]. Die beiden Parameter werden damit zu effektiven Biegesteifigkeiten κ_{eff} und Oberflächenspannungen σ_{eff} . Um auch dem

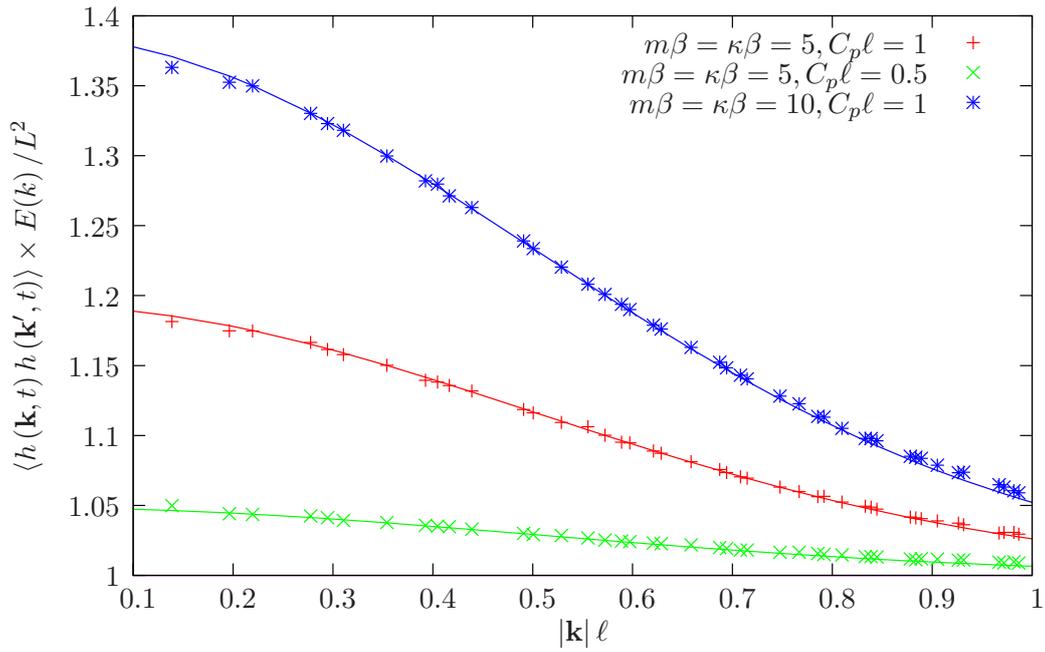


Abbildung 7.2 In dieser Abbildung ist die Höhen-Höhen-Korrelation für gleiche Zeiten $t = t'$ für den Sonderfall $m = \kappa$ skaliert um $E(k)/L^2$ als Funktion des Betrags $k\ell$ der \mathbf{k} -Vektoren aufgetragen. Die Punkte entsprechen den unterschiedlichen κ und C_p . Die durchgezogenen Linien stehen für den entsprechenden analytischen Verlauf (7.9). Die sehr gute Übereinstimmung zwischen Simulation und analytischen Rechnungen ist deutlich zu erkennen.

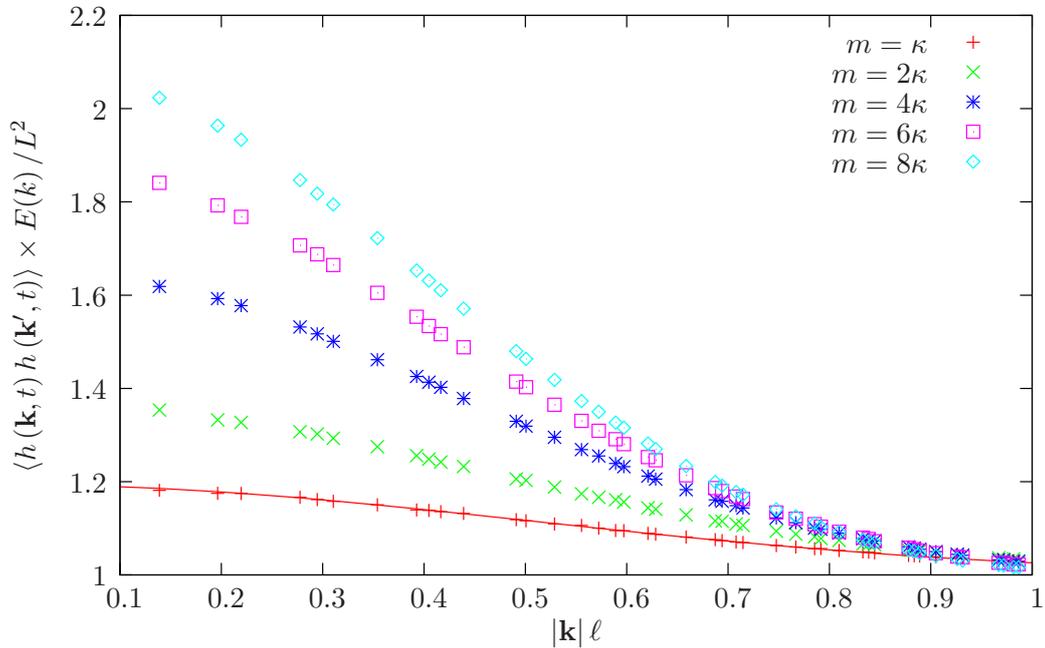


Abbildung 7.3 Die Höhen-Höhen-Korrelation für gleiche Zeiten $t = t'$ ist hier für den allgemeinen Fall $m \neq \kappa$, skaliert um den Faktor $E(k)/L^2$, als Funktion von $k\ell$ aufgetragen. Der analytische Verlauf für $m = \kappa$ ist als durchgezogene Linie und die Simulationsdaten als Punkte eingezeichnet. Für steigende Verhältnisse m/κ wächst die Amplitude der Korrelationsfunktion an, jedoch wird das Wachstum mit zunehmendem Verhältnis geringer.

Rechnung zu tragen wird aus Gleichung (7.9) eine effektive Biegesteifigkeit

$$\kappa_{\text{eff}} = \kappa \left(1 + \frac{\pi^2 a_p^4}{L^2} \kappa C_p^2 \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} \right)^{-1} \quad (7.21)$$

extrahiert. In den Abbildungen 7.4 und 7.5 ist die effektive Biegesteifigkeit als Verhältnis $\kappa_{\text{eff}}/\kappa$ über dem Betrag kl der relevanten Wellenvektoren $|\mathbf{k}| < 1$ aufgetragen. Die Datenpunkte für κ_{eff} wurden aus den Simulationsdaten für die Höhen-Höhen-Korrelation durch Anfitzen an die ungestörte Membrangleichung (3.21) bestimmt. Die durchgezogenen Linien entsprechen den analytischen Rechnungen (7.21). Die Variation von C_p zeigt eine deutliche Verringerung von κ_{eff} für wachsende spontane Krümmungen. In der nächsten Abbildung 7.5 ist das Verhältnis $\kappa_{\text{eff}}/\kappa$ für unterschiedliche Biegesteifigkeiten des Proteins $m\beta$ aufgetragen. Auch hier wird κ_{eff} mit steigendem $m\beta$ geringer, jedoch wird die Änderung für größere $m\beta$ kleiner. Vermutlich wird das Verhältnis für noch größere $m\beta$ gegen einen fixen Verlauf konvergieren. Eine analytische Aussage über den Spezialfall hinaus, ist auch hier wegen der schon mehrfach erwähnten Einschränkung nicht möglich. Eine Beschränkung von κ_{eff} nach unten hin ist dennoch realistisch, da die Biegesteifigkeit der Membran auch für $m\beta \rightarrow \infty$ nicht gegen Null gehen wird.

7.2.3 Zeitabhängige Höhen-Korrelationen

Nach dem Grenzfall $t = 0$ wenden wir uns nun dem allgemeinen Fall $t \neq 0$ zu. Auch hier wird zunächst der Spezialfall $m = \kappa$ untersucht. Hierzu wird die Korrelationsfunktion $\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle$ aus (7.15)

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle = \frac{L^2}{\kappa k^4} \exp\left\{-\frac{4\eta}{\kappa k^3} t\right\} + \frac{C_p^2 \pi^2 a_p^4}{k^4} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{2}\right\} \exp\{-Dk^2 t\}, \quad (7.22)$$

hier nochmals in ausgeschriebener Form, zuerst genauer betrachtet. Hier stellt sich die Frage, unter welchen Umständen die Zeitskalen dieser Gleichung (7.16) in den Höhen-Höhen-Korrelationen zu sehen bzw. voneinander trennbar sind. Dazu müssen zunächst $\tau_D(k)$ und $\tau_M(k)$ unterschiedliche Größenordnungen aufweisen. Da in der Herleitung von Gleichung (7.15) in Anlehnung an biologische Systeme zudem $\tau_D(k) \gg \tau_M(k)$ gefordert wird, gilt hieraus abgeleitet auch die Bedingung

$$\kappa \gg \frac{4\eta D_{\text{eff}}}{k}. \quad (7.23)$$

Diese Beziehung muss für alle relevanten k -Werte erfüllt sein. Für die Separierbarkeit sind jedoch nicht nur die Zeitskalen entscheidend, auch die Amplituden der Terme müssen geeignete Größen aufweisen. Um den Membrananteil in den Simulationsdaten stets gut abtrennen zu können muss der Proteinanteil deutlich kleiner als der Membrananteil sein. Im analytischen Sonderfall $m = \kappa$ ist dies der Fall, sobald $L^2 \gg \kappa C_p^2 \pi^2 a_p^4$ erfüllt ist. Die Exponentialfunktion $\exp\{-k^2 a_p^2/2\}$ wurde für diese Abschätzung gleich eins gesetzt. Berücksichtigt man noch den maximalen Wert für die spontane Krümmung

$$C_{p,\text{max}} = \frac{2}{a_p}, \quad (7.24)$$

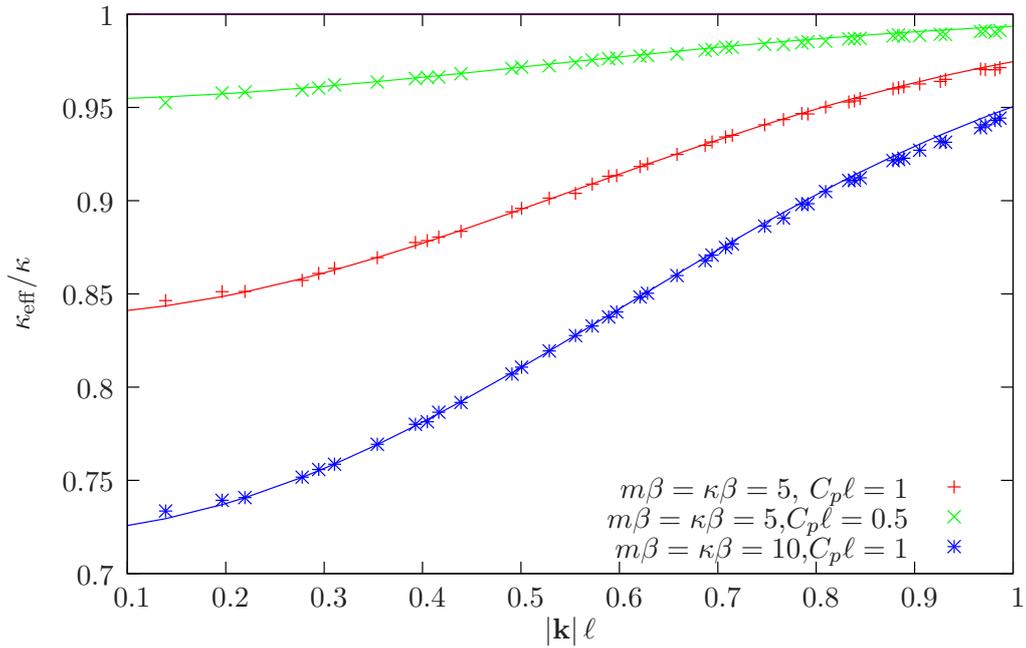


Abbildung 7.4 Effektives κ im Sonderfall $m = \kappa$ für unterschiedliche $m\beta$ und $C_p\ell$. Die Punkte entsprechen den unter Verwendung der ungestörten *Helfrich*-Energie bestimmten κ_{eff} . Die dazu gehörenden analytischen Kurven wurden mit Hilfe (7.21) berechnet.

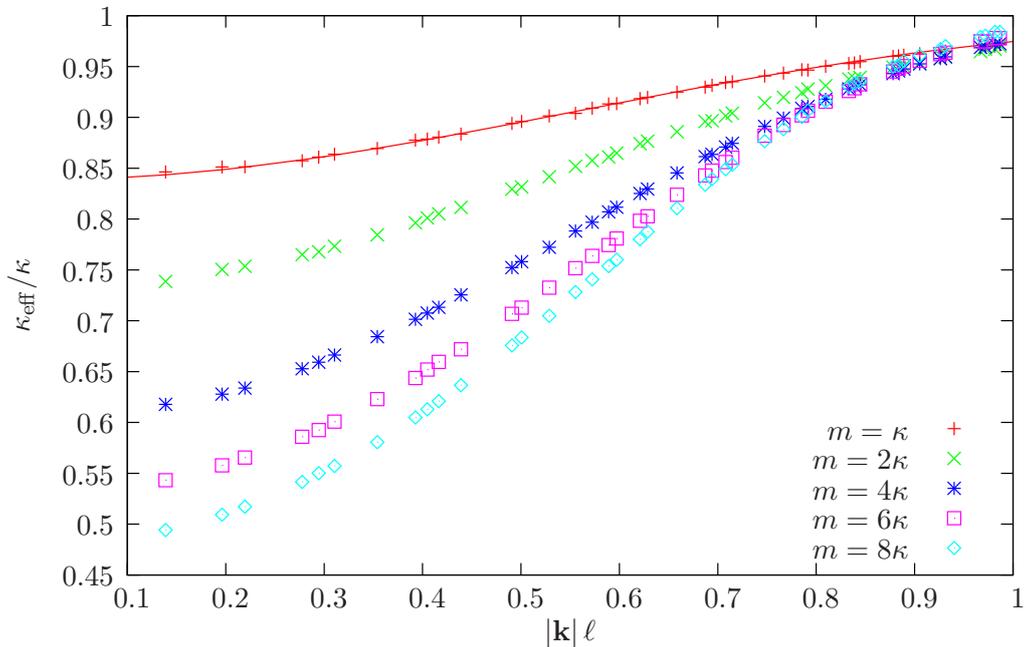


Abbildung 7.5 κ_{eff} ist hier für den allgemeinen Fall $m \neq \kappa$ und $C_p\ell = 1$ für unterschiedliche $m\beta$ aufgetragen. Die einzelne analytische Linie entspricht $m\beta = \kappa\beta = 5$. Für wachsende $m\beta$ erkennt man die Verringerung von κ_{eff} , des weiteren scheint das Verhältnis $\kappa_{\text{eff}}/\kappa$ für große $m\beta$ gegen einen endlichen, von Null verschiedenen Grenzwert zu konvergieren.

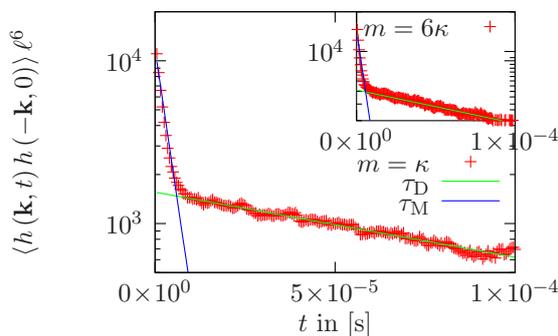


Abbildung 7.6 Abbildung einer zeitabhängigen Höhen-Höhen-Korrelation für einen beliebigen Betrag k eines Wellenvektors \mathbf{k} im Spezialfall $m = \kappa$. Im logarithmischen Plot entsprechen die Geraden dem exponentiellen Zerfall der Korrelationsfunktion und damit den Zeitskalen der Membran $\tau_M(k)$ und der Diffusion $\tau_D(k)$, welche deutlich getrennt sind. Verkleinert ist ein allgemeiner Fall für $m \neq \kappa$ eingezeichnet, bei dem ebenfalls die zwei Zeitskalen deutlich zu erkennen sind.

so folgt hieraus die Beziehung

$$L > 2\pi a_p \sqrt{\kappa}. \quad (7.25)$$

Diese hier vorgestellten Bedingungen wurden bei der Wahl der Parameter für die Simulationen berücksichtigt. In Abbildung 7.6 ist exemplarisch für ein fest gewähltes k die zeitabhängige Korrelation aufgetragen. Es ist deutlich zu erkennen, dass die beiden Zeitskalen gut voneinander trennbar sind. Für die Auswertung wird die Korrelation in die Anteile für die ungestörte Membran und das Protein zerlegt und die jeweiligen Amplituden und Abklingzeiten bestimmt. Dies geschieht, indem zuerst der langzeitige Zerfall an eine Exponentialfunktion angepasst wird. Die gefundene Amplitude und die Abklingzeit entsprechen dem erwarteten Proteineinfluss. Diese Exponentialfunktion wird anschließend von der ursprünglichen Korrelation abgezogen und die verbleibende Kurve wieder an eine Exponentialfunktion angepasst, welche nun die ungestörte Membran repräsentiert. Die gefundenen Amplituden werden nicht nochmals als Grafik gezeigt, da die Summen der Amplituden für jedes $k\ell$ den zuvor für $t = 0$ gefunden Amplituden in Abb. 7.2 und 7.3 entspricht. Die Abklingzeit des Membrananteils $\tau_M(k)$ (Abb. 7.8) ist wie analytisch berechnet gleich dem ungestörten Fall. Bedeutender ist die Abklingzeit $\tau_D(k)$ des Proteinanteils. $\tau_D(k)$ ist als Funktion von $k\ell$ in Abbildung 7.7 dargestellt. Auf den ersten Blick unterscheiden sich die Kurven für unterschiedliche Parametersätze nur wenig. Dies ist auch nicht verwunderlich, da C_p und m keinen direkten Einfluss auf $\tau_D(k)$ besitzen. Die analytischen Daten wurden durch Einsetzen der effektiven Diffusionskonstanten des Proteins D_{eff} , ermittelt aus dem mittleren Abstandsquadrat (Kap. 8), für die jeweiligen Parameter in (7.16) bestimmt und geben den Verlauf der Simulationsdaten sehr gut wieder. Verkleinert ist in der Abbildung auch das Verhältnis D_{eff}/D_0 als Funktion von $k\ell$ zu sehen. Da $\tau_D(k)$ eine Funktion von D_{eff} ist, kann D_{eff} aus $\tau_D(k)$ bestimmt werden. Es ist in der Abbildung gut zu erkennen, dass die Punkte innerhalb der Genauigkeit der Simulation auf einer Gerade liegen. Die eingezeichneten Linien sind hier die umgerechneten Werte aus dem mittleren Abstandsquadrat des Proteins, sie könnten aber auch direkt aus einem Fit bestimmt werden.

Geht man nun wieder zum allgemeinen Fall $m \neq \kappa$ über (Abb. 7.8), so fällt auf, dass auch hier die Simulationsdaten für $\tau_D(k)$ auch bei unterschiedlichen $m\beta$ auf den analytischen Kurven liegen. Sie unterscheiden sich einzig in der effektiven Diffusionskonstanten D_{eff} , die indirekt von den Proteinparametern abhängig ist. Dennoch ist auch hier Gleichung

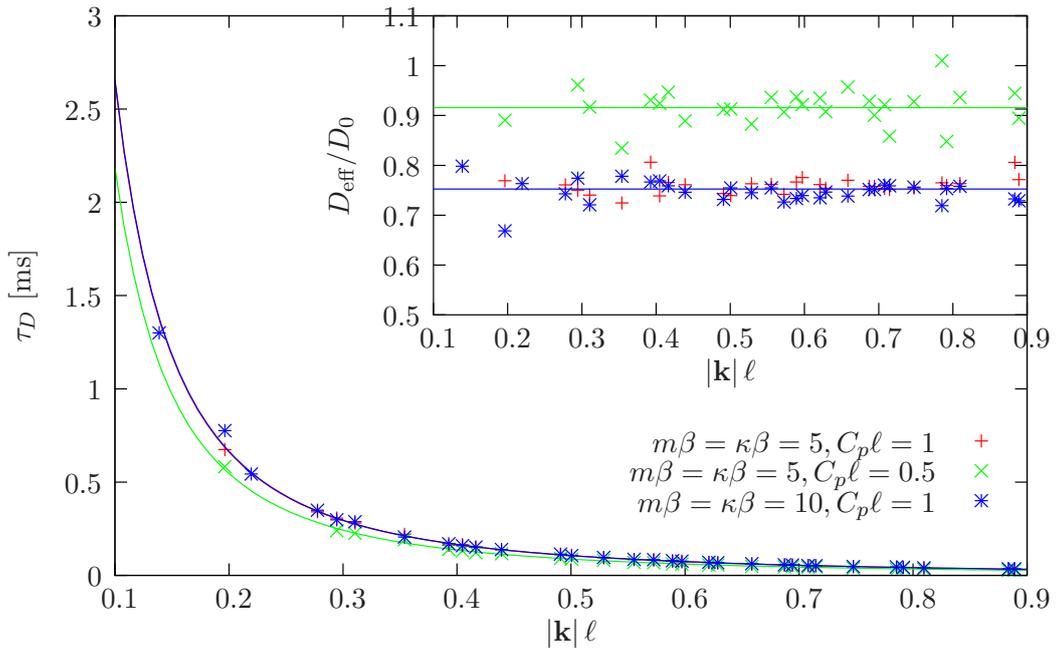


Abbildung 7.7 Die Abklingzeit $\tau_D(k)$ ist hier als Funktion von $k\ell$ dargestellt. Die durchgezogene Linie repräsentiert die analytischen Rechnungen. Im Inset ist $\tau_D(k)$ in das Verhältnis D_{eff}/D_0 umgerechnet. Die durchgezogenen Linien entsprechen den umgerechneten Werten aus dem mittleren Abstandsquadrat. Im Rahmen der Simulationengenauigkeit stellt D_{eff}/D_0 im Bezug auf $k\ell$ eine Konstante dar.

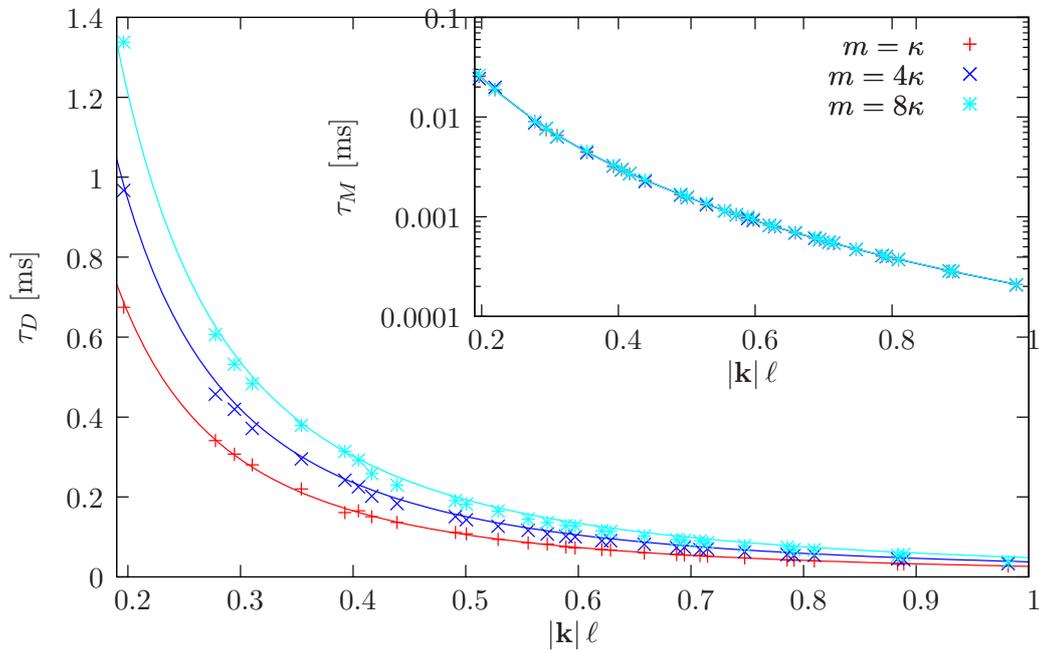


Abbildung 7.8 Die Abbildung zeigt die Abklingzeit $\tau_D(k)$ des langzeitigen Zerfalls als eine Funktion der Beträge $k\ell$ der Wellenvektoren \mathbf{k} für unterschiedliche Verhältnisse von m/κ . Die durchgezogenen Linien entsprechen den analytischen Erwartungen entsprechend Gleichung (7.16), wobei die hierfür benötigte effektive Diffusionskonstante aus dem mittleren Abstandsquadrat bestimmt wurde. Im eingebetteten Plot ist die Abklingzeit der Membran $\tau_M(k)$ ebenfalls als Funktion von $k\ell$ aufgetragen. Erwartungsgemäß sind die Simulationsdaten alle auf der analytischen Kurve (7.16).

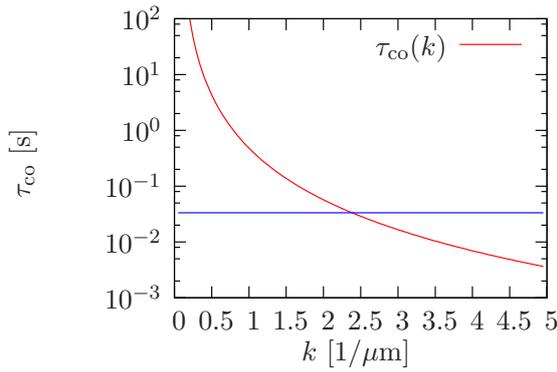


Abbildung 7.9 Crossover für eine Membran mit der Fläche $1\mu\text{m}^2$, $m\beta = \kappa\beta = 10$, $D = 10^{-8}\text{cm}^2/\text{s}$, $C_p = 1/(\sqrt{\pi}a_p)$. Die waagrechte Linie entspricht einer Bildrate von 30 Bildern pro Sekunde.

(7.16) gültig. In Abbildung 7.8 ist verkleinert die Abklingzeit $\tau_M(k)$ des Membrananteils abgebildet. Deutlich ist zu erkennen, dass auch im Fall $m \neq \kappa$ $\tau_M(k)$ nicht durch das Protein beeinflusst wird.

Um die in diesem Abschnitt betrachtete Korrelationsfunktion zu bestimmen, wurde die Membran über einen sehr langen Zeitraum beobachtet. Experimentell ist es eventuell schwierig, eine derart lange Messung mit einer ausreichend großen Samplingrate durchzuführen. Aus diesem Grund wird an dieser Stelle eine Abschätzung der Messdauer durchgeführt, welche zur Beobachtung der zwei Zeitskalen notwendig ist. Hierzu wird die Korrelationsfunktion, über die vereinfachte Gleichung

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle = M \exp\left\{-\frac{t}{\tau_M(k)}\right\} + A \exp\left\{-\frac{t}{\tau_D(k)}\right\} \quad (7.26)$$

dargestellt. Bildet man nun den Schnittpunkt zwischen dem zeitlichen Abfall der Membran und dem diffusiven Abfall

$$(M + A) \exp\left\{-\frac{\tau_{\text{co}}(k)}{\tau_M(k)}\right\} = A \exp\left\{-\frac{\tau_{\text{co}}(k)}{\tau_D(k)}\right\} \quad (7.27)$$

so erhält man die Übergangszeit

$$\tau_{\text{co}}(k) = \frac{\ln(1 + \frac{M}{A})}{\frac{1}{\tau_M(k)} - \frac{1}{\tau_D(k)}} = \left(\frac{1}{\tau_M(k)} - \frac{1}{\tau_D(k)}\right)^{-1} \ln\left(1 + \frac{L^2}{\kappa C_p^2 \pi^2 a_p^4} \exp\left\{\frac{k^2 a_p^2}{2}\right\}\right). \quad (7.28)$$

Diese auch für $m \neq \kappa$ gültige Gleichung ist in der obigen Gleichung auf der rechten Seite ebenfalls für den Spezialfall $m = \kappa$ angegeben, welcher im Folgenden betrachtet wird. Der eingeführte Übergang der Zeitskalen ist in Abbildung 7.9 als Funktion von k , hier in μm umgerechnet, dargestellt. Die waagrechte Linie entspricht der von einer üblichen Videokamera benötigten Zeit für eine Bildaufnahme bei 30 Bildern pro Sekunde wie sie in Experimenten [28] häufig verwendet wird. Der Zeitübergangspunkt $\tau_{\text{co}}(k)$ fällt für wachsende k ab und schneidet grob bei $k/\mu\text{m} \simeq 2.5$ die waagrechte Linie. Aus der Abbildung kann man entnehmen, dass für kleine k eine Beobachtung der zwei Zeitregime möglich sein sollte.

Zusammenfassend kann die Aussage getroffen werden, dass Gleichung (7.22) die Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion im Spezialfall $m = \kappa$ sehr gut beschreibt. Über den Spezialfall hinaus zeigt sich in den Simulationen eine mit der Biegesteifigkeit $m\beta$ anwachsende Störung

der Membrandynamik. Obwohl die analytische Gleichung in diesem Bereich formal keine Gültigkeit mehr hat, ist es dennoch möglich über diese Gleichung die Abklingzeiten $\tau_M(k)$ und $\tau_D(k)$ zu bestimmen. Dass $\tau_D(k)$ so gut bestimmbar ist, liegt jedoch auch an der Verwendung der effektiven Diffusionskonstante D_{eff} bei der Berechnung. Im nachfolgenden Kapitel bei der Betrachtung der Diffusion wird klar, dass diese analytisch nur schwer zu bestimmen ist. Dennoch ist es eventuell interessant, experimentell aus der Membrandynamik auf die effektive Diffusionskonstante für eine Proteinsorte in der Modellmembran zu schließen. Vor allem, da hierfür nicht die genauen Parameter $m\beta$ und $C_p\ell$ bekannt sein müssen, sondern bereits das Wissen um $C_p \neq 0$ ausreicht.

8 Einfluss auf die Diffusion

Im nun anstehenden Kapitel wird der Einfluss der Membran-Protein-Rückkopplung auf die Diffusionskonstante des Proteins untersucht. Da für die Diffusionskonstante des gekoppelten Systems keine direkte Lösung angegeben werden kann, werden hier zunächst nur die reinen Simulationsdaten vorgestellt.

8.1 Simulationsdaten

Die Simulationsdaten werden analog den Simulationen zur Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion bestimmt und umfassen 500 Einzeltrajektorien für jeden Parametersatz m , C_p und D_0 . Zur Bestimmung der Diffusionskonstanten wird die Steigung des Mittleren Abstandsquadrates (MSD) als Funktion der Zeit (4.8) bestimmt. In Abbildung 8.1 ist exemplarisch das MSD als Funktion der Zeit durch rote Punkte dargestellt. Die blaue Gerade entspricht dem linearen Fit für große Zeiten und die grüne Gerade deutet die projizierte, freie Diffusion D_p an.

Für den Einfluss auf die Diffusionskonstante wurde entgegen der Simulationen für die Höhen-Höhen-Korrelation nicht nur m und C_p , sondern auch die Konstante der freien Diffusion in der Membran D_0 variiert. Für das kleinste betrachtete $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2/s$ (dieser Wert wurde stets bei den Höhen-Höhen-Korrelation verwendet) zeigt sich für steigende m eine Verringerung der effektiven Diffusionskonstanten D_{eff} (siehe Abb. 8.2). Diese geht für $C_p \ell = 1$ und für $m = 40$ um die Hälfte zurück. Aber selbst für $m = \kappa$ beträgt das Verhältnis D_{eff}/D_0 nur 0.7, was ebenfalls weit unter der projizierten, freien Diffusion ($D_{\text{frei,p}}/D_0 \simeq 0.94$) liegt. Für $C_p \ell = 0.5$ ist die Verlangsamung der Diffusion nicht so drastisch, qualitativ ist jedoch ein ähnlicher Verlauf zu sehen. Die eingezeichneten analytischen Linien geben sehr gut den qualitativen Verlauf wieder. Deren Bestimmung wird in einem späteren Kapitel 8.3 ausführlich erläutert.

Für eine größere Mobilität des Proteins in der Membran und der damit größeren Diffusionskonstanten D_0 wird dieser Effekt noch deutlicher. In Abbildung 8.3 ist ebenfalls

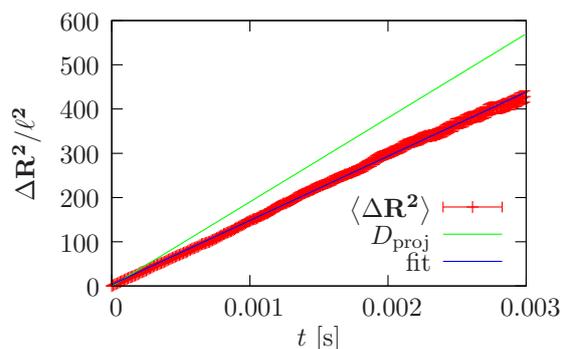


Abbildung 8.1 Beispiel eines Plot des MSD zur Bestimmung der Steigung und damit der effektiven Diffusionskonstanten D_{eff} . D_{proj} gibt den Verlauf des MSD im Fall der freien, projizierten Diffusion an.

m	$C_P \ell = 0.5$	$C_P \ell = 1$
5	45785	37810
10	44488	32369
20	38933	26494
30	37943	21653
40	36853	20695

Tabelle 8.1 Diffusionskonstanten für ein einzelnes Protein mit unterschiedlicher Krümmung C_p und fest gewähltem $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2/s$

das Verhältnis D_{eff}/D_0 über $m\beta$ aufgetragen. Für das größte betrachtete $D_0 = 1 \times 10^7 \ell^2/s$ bricht die effektive Diffusion sogar auf ein hundertstel der freien Diffusion ein.

Dieser Einbruch in der Geschwindigkeit der Diffusion ist umso verwunderlicher, da zusätzlich zur stochastischen Kraft der *Brown'schen* Bewegung noch zusätzliche Kräfte auf das Protein wirken, welche die Diffusion eigentlich verstärken sollten [36, 37]. In Tabelle 8.1 sind die bestimmten Diffusionskonstanten für unterschiedliche Parameter bei festem $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2/s$ eingetragen.

8.2 Komponenten des mittleren Abstandsquadrates

Um diese Diskrepanz zu den ersten Erwartungen für die Diffusionskonstante zu verstehen, lohnt sich ein Blick auf die Definition der Diffusionskonstanten

$$D = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\langle (\Delta R(t))^2 \rangle}{4t} \quad (8.1)$$

$$= \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\left\langle \int_0^t d\tau \partial_\tau \mathbf{R}(\tau) \int_0^t d\tau' \partial_{\tau'} \mathbf{R}(\tau') \right\rangle}{4t} \quad (8.2)$$

und die Bewegungsgleichung (5.16) des Proteins

$$\partial_t \mathbf{R}(t) = \mu_p \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t) + \mu_p \mathbf{f}_{\text{d}}(\mathbf{R}, t) + \boldsymbol{\zeta}(\mathbf{R}, t), \quad (8.3)$$

hier verkürzt dargestellt. Dabei entspricht

$$\mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t) \equiv \frac{1}{\mu_p} \partial_t \mathbf{R}_{\text{CC}}(t) \quad (8.4)$$

der Kraft auf das Protein vermittelt durch die Membran, $\mu_p \mathbf{f}_{\text{d}}(\mathbf{R}, t)$ der durch die Projektion in die Beobachtungsebene verursachten Drift (4.15) und $\boldsymbol{\zeta}(\mathbf{R}, t)$ der stochastischen Kraft am Ort des Proteins. Setzt man die verkürzte Bewegungsgleichung in die Definition

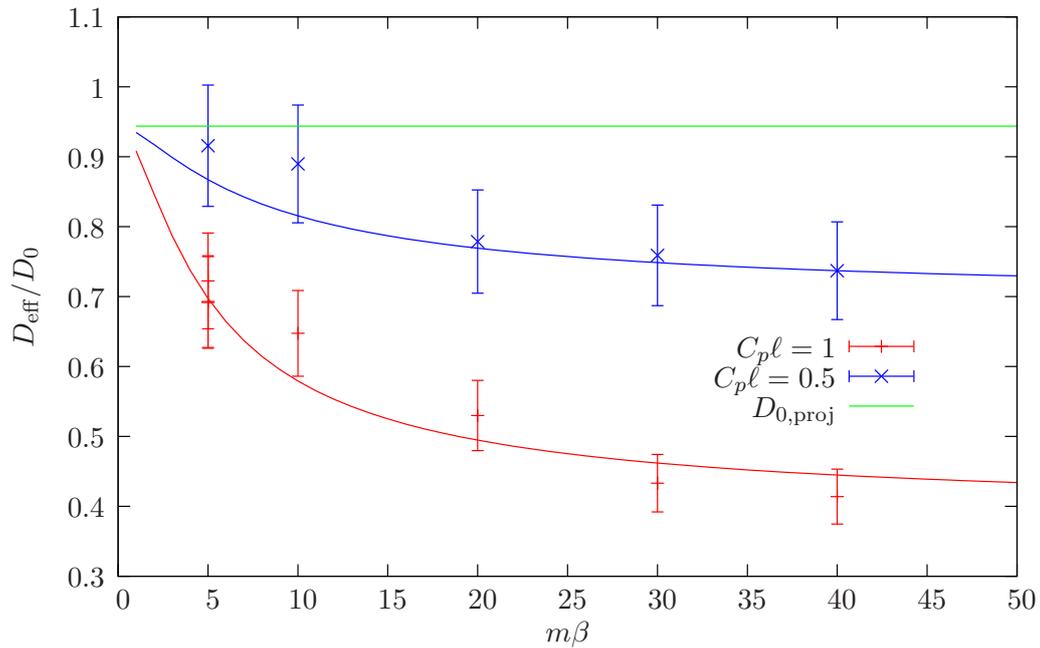


Abbildung 8.2 D_{eff}/D_0 als Funktion von $m\beta$ für $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2/\text{s}$. Mit steigendem $m\beta$ und C_{pl} verringert sich die effektive Diffusion D_{eff} . Die analytischen Kurven für $C_{pl} > 0$ werden über eine Näherung bestimmt, welche im Kapitel 8.3 vorgestellt wird. Die so erhaltenen Kurven geben den qualitativen Verlauf von D_{eff}/D_0 sehr gut wieder.

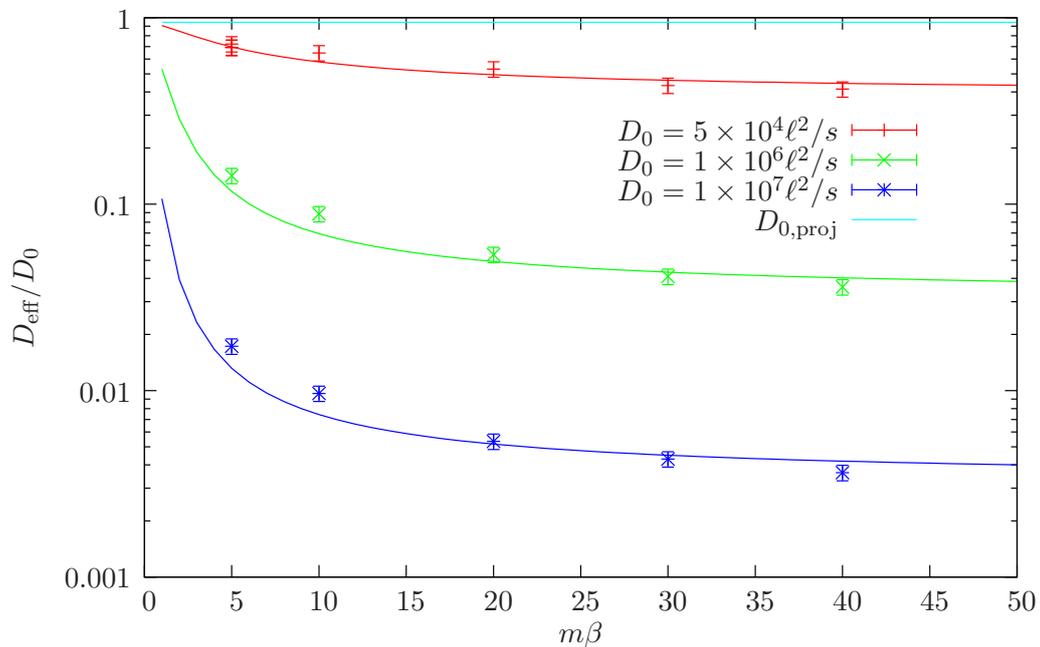


Abbildung 8.3 D_{eff}/D_0 als Funktion von $m\beta$ für unterschiedliche D_0 bei festem $C_{pl} = 1$. Die analytischen Kurven stimmen mit dem qualitativen Verlauf der Simulationsergebnisse gut überein. Die Bestimmung der analytischen Kurven erfolgt mit der in Kap. 8.3 vorgestellten Methode.

der Diffusionskonstanten (8.2) ein, so ergibt sich das MSD zu

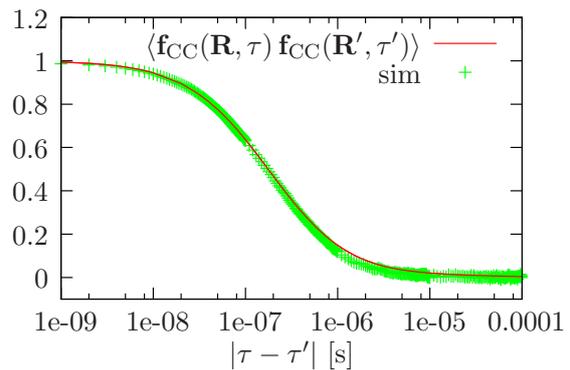
$$\begin{aligned}
 \langle \Delta \mathbf{R}^2(t) \rangle = & \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \langle \zeta(\mathbf{R}(\tau), \tau) \zeta(\mathbf{R}(\tau'), \tau') \rangle + \\
 & + \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p^2 \langle \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau') \rangle + \\
 & - \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p \langle \zeta(\mathbf{R}(\tau), \tau) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau') \rangle - \\
 & - \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p^2 \langle \mathbf{f}_d(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau') \rangle - \\
 & - \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p^2 \langle \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_d(\mathbf{R}', \tau') \rangle - \\
 & + \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p^2 \langle \mathbf{f}_d(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_d(\mathbf{R}', \tau') \rangle + \\
 & + \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p \langle \mathbf{f}_d(\mathbf{R}, \tau) \zeta(\mathbf{R}(\tau'), \tau') \rangle + \\
 & + \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p \langle \zeta(\mathbf{R}(\tau), \tau) \mathbf{f}_d(\mathbf{R}', \tau') \rangle - \\
 & - \int_0^t d\tau \int_0^t d\tau' \mu_p \langle \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau) \zeta(\mathbf{R}(\tau'), \tau') \rangle. \tag{8.5}
 \end{aligned}$$

Terme, in denen die stochastischen Kräfte von Kräften zu früheren Zeiten abhängig sein müssten, können entsprechend den Definitionen für stochastische Kräfte vernachlässigt werden. In (8.5) ist bei der Berechnung $\tau > \tau'$ gewählt und die entsprechenden Terme sind durchgestrichen.

Von den verbleibenden Termen werden Korrelationen, welche die Drift aus der Projektion $\mathbf{f}_d(\mathbf{R}, \tau)$ beinhalten, vernachlässigt. Dies ist möglich, da diese Drift bei den betrachteten Parametern sehr klein ist, es gilt $\mathbf{f}_d(\mathbf{R}, \tau) \ll \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau)$. Die damit gebildeten Korrelationen werden somit ebenfalls sehr klein sein, wohingegen Korrelationen mit der Kraft $\mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, t)$ die Hauptbeiträge liefern. Für die Korrelation der durch die Membran vermittelten Kraft $\mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau)$ mit sich selbst $\langle \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau') \rangle$ ist sogar, für den Spezialfall $m = \kappa$, die analytische Berechnung der Korrelation möglich. Hier erhält man die Korrelationsfunktion

$$\begin{aligned}
 \langle \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau') \rangle = & \sum_{\mathbf{k}} \frac{\kappa C_p^2 \pi^2 a_p^4}{L^2} k^2 \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} \times \\
 & \times \exp\{-Dk^2 |\tau - \tau'|\} \exp\{-\gamma |\tau - \tau'|\} + \\
 & + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\kappa^2 C_p^4 \pi^4 a_p^8}{L^4} k^2 \exp\{-a_p^2 k^2\} \times
 \end{aligned}$$

Abbildung 8.4 Vergleich der analytischen Rechnungen zur Korrelationsfunktion $\langle \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', \tau') \rangle$ mit Simulationsdaten.



$$\times \exp\{-2Dk^2 |\tau - \tau'|\}, \quad (8.6)$$

deren Herleitung im Anhang (A.3) zu finden ist. Dieser Ausdruck kann für die in der Simulation verwendeten Parameter ($m\beta = \kappa\beta = 5$, $C_p\ell = 1$, $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2/s$ und $a_p = 2\ell$) numerisch aufsummiert werden. In Abbildung 8.4 ist die auf eins normierte Korrelationsfunktion $\langle \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', \tau') \rangle$ als Funktion der Zeit mit logarithmischer Zeitachse aufgetragen. Gut ist die Übereinstimmung zwischen Simulationsdaten und der aufsummierten Korrelationsfunktion zu erkennen. Wie erwartet fällt $\langle \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', \tau') \rangle$ für große Zeitdifferenzen $|\tau - \tau'|$ auf Null ab. Entsprechend (8.5) liefert die zweifache Integration über die Zeit den Beitrag zum MSD. Da die Korrelationsfunktion stets positiv ist und ebenso das Vorzeichen im MSD, liefert $\langle \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, \tau) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', \tau') \rangle$ einen positiven Beitrag zur effektiven Diffusionskonstanten. Um die Reduktion der Diffusion zu erklären, verbleibt als einzige Möglichkeit die Korrelation $\langle \boldsymbol{\zeta}(\mathbf{R}(\tau), \tau) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', \tau') \rangle$. Diese kann analytisch nicht bestimmt werden. Betrachtet man diese Korrelationsfunktion, gemittelt über 500 Einzeltrajektorien, so würde man annehmen, dass diese beiden Größen unkorreliert sind (nicht gezeigt). Da diese Korrelation jedoch der einzige Grund für die Verringerung der Diffusion sein kann, wurde für den Spezialfall $m = \kappa$ ein erhöhter Aufwand getrieben und die Korrelationsfunktionen gemittelt über 3500 Trajektorien bestimmt. Dies entspricht einer Rechenzeit von ca. 49000 CPU-Stunden. Die Korrelationsfunktionen aus diesem Lauf wurden numerisch aufintegriert und sind als einzelne Bestandteile zum MSD in Abbildung 8.5 als Funktion der Zeit zu sehen. Zur besseren Unterscheidbarkeit der Datenpunkte sind nur die bedeutendsten, integrierten Korrelationsfunktionen eingezeichnet. Aus diesem Plot wurden für große Zeiten die Beiträge zur Diffusionskonstanten aus der Steigung der MSD-Beiträge bestimmt.

Die einzelnen Zahlenwerte und das entsprechende Vorzeichen des Beitrags sind in der Tabelle 8.5 vermerkt. Die grau unterlegten Zeilen stellen die Hauptbeiträge dar, deren Summe $D_{\text{eff,korr}} = 36598 \ell^2/s$ sehr nahe bei dem Zahlenwert $D_{\text{eff}} = 37810 \ell^2/s$, ermittelt aus dem MSD, liegt. Dass die Summe der einzelnen Beiträge nicht dem Wert für das aufintegrierte differentielle MSD entspricht, liegt an den numerischen Fehlern bei der Integration und der Bestimmung der resultierenden Steigungen.

Die Tatsache, dass die stochastische Kraft $\boldsymbol{\zeta}(\mathbf{R}(\tau), \tau)$ stark mit der von der Membran vermittelten Kraft $\mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, \tau)$ korreliert ist, ist für sich nichts Erstaunliches, da sie eine direkte Antwort der Membran auf die Bewegung des Proteins darstellt. Im ersten Moment erstaunlich ist eher, dass diese Kraft $\mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, \tau)$ der stochastischen Kraft $\boldsymbol{\zeta}(\mathbf{R}(\tau), \tau)$ so stark entgegengewirkt. Dies kann im nachhinein leicht aufgelöst werden. Nimmt man das

Protein zu einem Zeitpunkt τ in einem lokalen Minimum am Ort $\mathbf{R}_{\min}(\tau)$ an, so wird es durch die stochastische Kraft aus seinem zeitlichen, lokalen Minimum getrieben. Dies bedeutet eine erzwungene Anpassung der Membran an die neue Position des Proteins. Da die Membran sich aber nicht instantan ändern kann, resultiert aus der Positionsverschiebung auch eine rücktreibende Kraft, welche aufgrund des Gradienten der *Helfrich*-Energie immer in Richtung des lokalen Minimums zeigt. Als Analogon kann man sich eine Kugel in einem parabel-förmigen Potential vorstellen, welche aus ihrer Ruhelage ausgelenkt wird und stets rücktreibende Kräfte durch das Potential erfährt. Natürlich ist die eigentliche Situation komplexer, da in dieser Analogie die Kugel auch das Potentialminimum in Richtung seiner neuen Position ziehen würde.

Die Idee eines Proteins im energetischen Minimum, dem sein Minimum folgt, wurde näher betrachtet und eine Gleichung zur Abschätzung der effektiven Diffusionskonstanten entwickelt. Diese Gleichung mit der Anwendung auf das in der Arbeit betrachtete System wird im nächsten Abschnitt vorgestellt.

8.3 Bestimmen der effektiven Diffusionskonstanten

In diesem Abschnitt wird ein Modell für eine effektive Diffusionskonstante eines Proteins im Minimum der *Helfrich*-Energie eingeführt [67]. Voraussetzung dafür ist ein Protein, welches sich im Minimum der Potentiallandschaft aufhält. Zusätzlich ist das Protein in der Lage, das lokale Minimum entlang seines Pfades hinter sich herzuziehen. Von diesen Voraussetzungen kann man angesichts der stark rücktreibenden Kräfte durchaus ausgehen. Entsprechend den Pfadintegralmethoden [49] ist die Wahrscheinlichkeit

$$\mathcal{P}[\mathbf{R}(t), h(\mathbf{k}, t)] \sim \exp\left\{-\frac{\beta}{2} \int_0^t d\tau L(\mathbf{R}(\tau), h(\mathbf{k}, \tau))\right\} \quad (8.7)$$

für einen bestimmten Pfad durch die Funktion L bestimmt, welche vom Ort $\mathbf{R}(t)$ und den Höhenmoden $h(\mathbf{k}, t)$ abhängt. Die Funktion

$$L(\mathbf{R}(\tau), h(\mathbf{k}, \tau)) \equiv \frac{1}{2\mu_p} \left(\dot{\mathbf{R}}(t) + \mu_p \nabla_{\mathbf{R}} \mathcal{H} \right)^2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left| \partial_t \dot{h}(\mathbf{k}, t) + \Lambda(k) \frac{\partial \mathcal{H}}{\partial h(\mathbf{k}, t)} \right|^2 \quad (8.8)$$

setzt sich aus den einzelnen Bewegungsgleichungen verknüpft mit den entsprechenden inversen Mobilitäten zusammen. Für den Fall des Proteins im lokalen Minimum ist es möglich, die *Helfrich*-Energie \mathcal{H}_{1T} um das lokale Minimum zu entwickeln. Seien $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ die Moden, für die \mathcal{H}_{1T} minimal wird, so ist $y_{\mathbf{k}} = h(\mathbf{k}, t) - \hat{h}(\mathbf{k}, \mathbf{R}(t))$ eine kleine Störung des Energieminimums. In einer *Taylor*-Entwicklung um $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ erhält man

$$\mathcal{H}[\mathbf{R}(t), h(\mathbf{k}, t)] \approx \mathcal{H}[\hat{h}(\mathbf{k}, t)] + \frac{1}{2} \sum_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \frac{\partial^2 \mathcal{H}}{\partial h(\mathbf{k}, t) \partial h(\mathbf{k}', t)} \Big|_{\hat{h}(\mathbf{k}, t)} y_{\mathbf{k}} y_{\mathbf{k}'}. \quad (8.9)$$

Terme linear in $y_{\mathbf{k}}$ verschwinden, da $\partial \mathcal{H} / \partial h(\mathbf{k}, t) \Big|_{\hat{h}(\mathbf{k}, t)} = 0$ ist. Mit dieser Entwicklung von \mathcal{H} kann

$$\frac{\partial \mathcal{H}}{\partial \mathbf{R}(t)} = \nabla_{\mathbf{R}} \mathcal{H}[\hat{h}(\mathbf{k}, t)] + \frac{1}{2} \kappa \beta \sum_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}} V_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \quad (8.10)$$

$$= \kappa \beta \sum_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \left(y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}} V_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - y_{\mathbf{k}} V_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right), \quad (8.11)$$

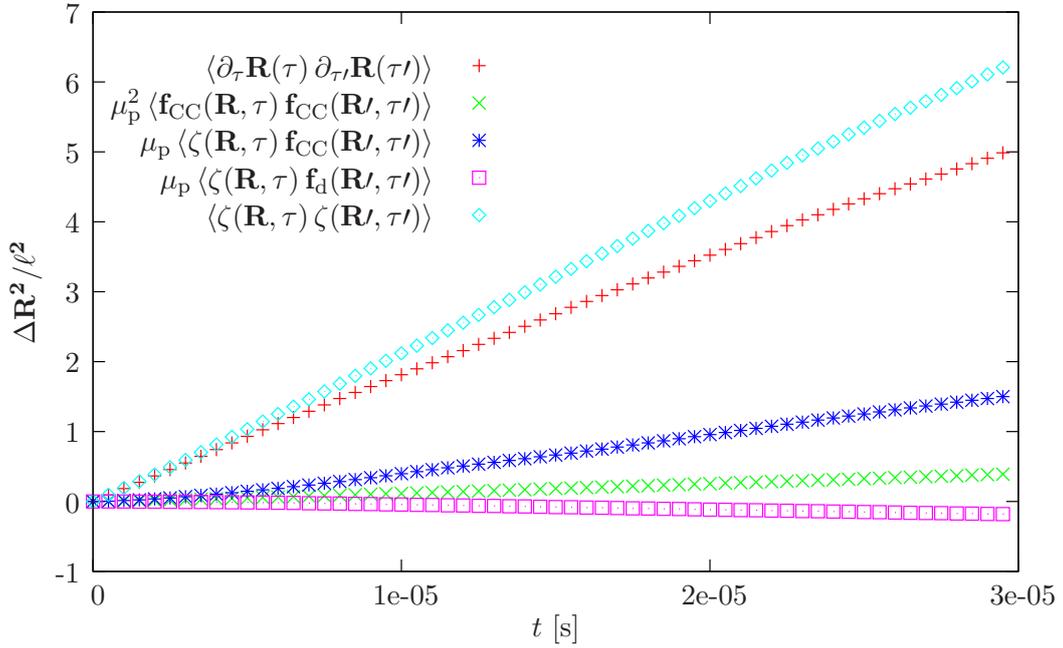


Abbildung 8.5 In dieser Abbildung sind die aufintegrierten Korrelationsfunktionen als Funktion der Zeit aufgetragen. Aus ihnen wird für späte Zeiten die Steigung ermittelt. Deutlich ist der große Betrag von $\langle \zeta(\mathbf{R}(\tau), \tau) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau') \rangle$ zu erkennen, wobei diese positive Korrelation durch das negative Vorzeichen in den Rechnungen die effektive Diffusion verringert.

Korr.-Fkt.	Vz.	Beitrag [ℓ^2/s]
$\left\langle \frac{\partial \Delta \mathbf{R}}{\partial \tau} \frac{\partial \Delta \mathbf{R}}{\partial \tau'} \right\rangle$	+	36498
$\mu_p^2 \langle \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, 0) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau) \rangle$	+	3591
$\mu_p \langle \zeta(\mathbf{R}, 0) \zeta(\mathbf{R}(\tau'), \tau') \rangle$	+	47552
$\langle \mu_p^2 \mathbf{f}_d(\mathbf{R}, 0) \mathbf{f}_d(\mathbf{R}', \tau') \rangle$	+	319
$\langle \mu_p \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, 0) \zeta(\mathbf{R}', t') \rangle$	-	119
$\mu_p \langle \zeta(\mathbf{R}, 0) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, \tau) \rangle$	-	13718
$\langle \mu_p \mathbf{f}_d(\mathbf{R}, 0) \zeta(\mathbf{R}(\tau'), \tau') \rangle$	+	6
$\langle \mu_p \zeta(\mathbf{R}, 0) \mathbf{f}_d(\mathbf{R}', \tau') \rangle$	+	-1700
$\langle \mu_p^2 \mathbf{f}_d(\mathbf{R}, 0) \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}', \tau) \rangle$	-	-266
$\langle \mu_p^2 \mathbf{f}_{CC}(\mathbf{R}, 0) \mathbf{f}_d(\mathbf{R}, t) \rangle$	-	-289

Abbildung 8.6 In dieser Tabelle sind die Beiträge der aufintegrierten Korrelationsfunktionen zur effektiven Diffusionskonstanten, im Sonderfall $m\beta = \kappa\beta = 5$ und für $C_p\ell = 1$, $D_0 = 5 \times 10^4 \ell^2/s$, aufgelistet. Die Summe der grau unterlegten Zeilen ergeben, im Rahmen der numerischen Genauigkeit, den Wert für D_{eff} aus dem MSD.

mit der Abkürzung

$$\kappa\beta V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} = \left. \frac{\partial^2 \mathcal{H}}{\partial h(\mathbf{k}, t) \partial h(\mathbf{k}', t)} \right|_{\hat{h}(\mathbf{k}, \mathbf{R}(t))}, \quad (8.12)$$

entsprechend dem ersten Term in (8.8) berechnet werden. Hier wurde bereits ausgenutzt, dass das Energieminimum nicht vom Ort des Proteins abhängig ist. Ebenso kann die im zweiten Term auftretende Ableitung nach den Moden

$$\frac{\partial \mathcal{H}}{\partial h(\mathbf{k}, t)} = \sum_{\mathbf{k}} \kappa\beta V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \quad (8.13)$$

durchgeführt werden. Hier ist bereits das quadratische Auftreten von $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ in \mathcal{H}_{1T} berücksichtigt. Setzt man die beiden Ergebnisse (8.11) und (8.13) in (8.8) ein, folgt

$$\begin{aligned} L(\mathbf{R}(t), h(\mathbf{k}, t)) &= \frac{1}{2\mu_p} \left[\dot{\mathbf{R}}(t) + \mu_p \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \left(y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}} \kappa\beta V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - \kappa\beta y_{\mathbf{k}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right) \right]^2 \\ &+ \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left| \dot{y}_{\mathbf{k}} + \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, \mathbf{R}(t)) \dot{\mathbf{R}}(t) + \sum_{\mathbf{k}'} \Lambda(k') \kappa\beta V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \right|^2 \quad (8.14) \\ &= \frac{1}{2\mu_p} \dot{\mathbf{R}}(t)^2 \\ &+ \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left(|\dot{y}_{\mathbf{k}}|^2 + \left| \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}(t) \right|^2 + 2\dot{y}_{\mathbf{k}}^* \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}(t) \right) \\ &+ \frac{\kappa\beta}{2} \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \left(\dot{y}_{\mathbf{k}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'}^* + \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}(t) V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'}^* \right) \\ &+ \frac{\kappa\beta}{2} \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \dot{\mathbf{R}}(t) \left(y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - y_{\mathbf{k}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right) \\ &+ \frac{(\kappa\beta)^2}{2} \sum_{\mathbf{k}} \Lambda(k) \left| \sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \right|^2 \\ &+ \frac{\mu_p}{2} (\kappa\beta)^2 \left(\sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - y_{\mathbf{k}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right)^2. \quad (8.15) \end{aligned}$$

Vernachlässigt man Terme, welche bei der Integration über t im Pfadgewicht nur konstante Beiträge liefern, ergibt sich die vereinfachte Form

$$\begin{aligned} L(\mathbf{R}(t), h(\mathbf{k}, t)) &= \frac{1}{2\mu_p} \dot{\mathbf{R}}^2(t) \\ &+ \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left(|\dot{y}_{\mathbf{k}}|^2 + \left| \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}(t) \right|^2 + 2\dot{y}_{\mathbf{k}}^* \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}(t) \right) \\ &+ \frac{(\kappa\beta)^2}{2} \sum_{\mathbf{k}} \Lambda(k) \left| \sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \right|^2 \\ &+ \frac{\mu_p}{2} (\kappa\beta)^2 \left(\sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - y_{\mathbf{k}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right)^2. \quad (8.16) \end{aligned}$$

Um in dieser Gleichung die effektive Mobilität zu bestimmen, muss über die Membranstörung $y_{\mathbf{k}}$ integriert werden. Dies ist jedoch nicht direkt möglich. In erster Näherung wird daher die Membranstörung $y_{\mathbf{k}}$ durch die Störung $\tilde{y}_{\mathbf{k}}$ ersetzt, welche den größten Beitrag im Pfadintegral liefert. Diese Größe minimiert die Funktion L und kann durch Lösen der *Euler-Lagrange-Gleichung*

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial L}{\partial \dot{\tilde{y}}_{\mathbf{k}}} - \frac{\partial L}{\partial \tilde{y}_{\mathbf{k}}} = 0 \quad (8.17)$$

bestimmt werden. Da die Störung $y_{\mathbf{k}}$ per Definition sehr klein ist, fallen Terme höherer Ordnung nicht ins Gewicht, und man erhält die lineare Differentialgleichung

$$\begin{aligned} 0 &= \frac{\ddot{\tilde{y}}_{\mathbf{k}}}{\Lambda(k)} + \frac{1}{\Lambda(k)} \frac{d^2 \hat{h}(\mathbf{k}, t)}{dt^2} \\ &\quad - \frac{(\kappa\beta)^2}{2} \sum_{\mathbf{k}''} \Lambda(k'') \left(\sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k}'', \mathbf{k}'} \tilde{y}_{\mathbf{k}'} \right) V_{\mathbf{k}'', \mathbf{k}} \\ &\quad - \frac{\mu_p (\kappa\beta)^2}{2} \left(\sum_{\mathbf{k}'', \mathbf{k}'} \tilde{y}_{\mathbf{k}''} V_{\mathbf{k}'', \mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right) \sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t). \end{aligned} \quad (8.18)$$

Die Summanden der verbleibenden Summen können zu einer positiv definiten Matrix $\tilde{V}_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'}$ zusammengefasst werden, woraus die vereinfachte Gleichung

$$\ddot{\tilde{y}}_{\mathbf{k}} - (\kappa\beta)^2 \sum_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \tilde{V}_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \tilde{y}_{\mathbf{k}'} = - \frac{d^2 \hat{h}(\mathbf{k}, t)}{dt^2} \quad (8.19)$$

folgt. Da für weitere Rechnungen nur die Größenordnung von $\kappa\beta$ entscheidend ist und die Größenordnung nicht durch die Wellenvektoren beeinflusst wird, kann die \mathbf{k} -Abhängigkeit ignoriert und so getan werden, als ob nur eine Mode auftreten würde. Damit kann die homogene

$$\tilde{y}_{\mathbf{k}, \text{hom}} = \frac{1}{2\kappa\beta\sqrt{\tilde{V}}} \left(\exp\left\{-\kappa\beta\sqrt{\tilde{V}}t\right\} - \exp\left\{\kappa\beta\sqrt{\tilde{V}}t\right\} \right) \quad (8.20)$$

und inhomogene Lösung

$$\tilde{y}_{\mathbf{k}, \text{inh}} = \frac{1}{2\kappa\beta\sqrt{\tilde{V}}} \int_0^t d\tau \left(\exp\left\{-\kappa\beta\sqrt{\tilde{V}}(t+\tau)\right\} - \exp\left\{\kappa\beta\sqrt{\tilde{V}}(t-\tau)\right\} \right) \frac{d^2 \hat{h}(\mathbf{k}, t)}{dt^2} \quad (8.21)$$

jeweils durch einen Separationsansatz bestimmt werden [68]. Die Wurzel der Matrix $\tilde{V}_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'}$ ist über die Wurzel der Eigenwerte der Matrix definiert.

Betrachtet man die Abhängigkeit der Lösungen von $\kappa\beta$ so fällt auf, dass die homogene Lösung auf der Zeitskala $(\kappa\beta)^{-1}$ abfällt und von der Größenordnung $(\kappa\beta)^{-1}$ ist. Für die Größenordnung der inhomogenen Lösung macht man es sich erneut zunutze, dass die Diffusion sehr langsam ist und $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ auf der Zeitskala $(\kappa\beta)^{-1}$ nahezu konstant ist. Hierdurch kann die Größenordnung der inhomogenen Lösung zu $(\kappa\beta)^{-2}$ bestimmt werden und damit

auch die Größenordnung $(\kappa\beta)^{-2}$ von $\tilde{y}_{\mathbf{k}}$. Damit können die Terme in (8.18) nach Ordnungen von $\kappa\beta$ sortiert werden. Für große $\kappa\beta$ reicht die Betrachtung niederer Ordnungen und man erhält

$$L(\mathbf{R}(t), \hat{h}(\mathbf{k}, t)) = \frac{1}{2\mu_p} \dot{\mathbf{R}}^2(t) + \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}(t) \right|^2 + \mathcal{O}((\kappa\beta)^{-2}). \quad (8.22)$$

Anschließend kann die Mobilität über den Vorfaktor von $\dot{\mathbf{R}}^2(t)$ identifiziert werden, und es ergibt sich das Verhältnis von freier zu effektiver Diffusion

$$\frac{D_0}{D_{\text{eff}}} = 1 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, \mathbf{R}(t)) \right|^2. \quad (8.23)$$

Das berechnete Verhältnis ist durch die Energie minimierenden Moden $\hat{h}(\mathbf{k}, \mathbf{R}(t))$ bestimmt. Diese werden über die Minimierung der *Helfrich*-Energie erhalten:

$$\begin{aligned} 0 &\stackrel{!}{=} \frac{\partial \mathcal{H}}{\partial h(\mathbf{k}, t)} \\ &= k^2 h(-\mathbf{k}, t) \\ &\quad + \left(\frac{m}{\kappa} - 1 \right) \frac{\pi a_p^2}{L^2} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 h(\mathbf{k}', t) \exp\{-i\mathbf{R} \cdot (\mathbf{k} + \mathbf{k}')\} \exp\left\{ -\frac{a_p^2}{4} (\mathbf{k} + \mathbf{k}')^2 \right\} \\ &\quad - \frac{\pi a_p^2 m C_p}{\kappa} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \exp\left\{ -\frac{a_p^2 k^2}{4} \right\}. \end{aligned} \quad (8.24)$$

Die Lösung dieser Differentialgleichung (8.24) erfolgt über den Ansatz

$$\hat{h}(\mathbf{k}, t) \equiv \frac{a_{\mathbf{k}}}{k^2} \exp\left\{ -\frac{a_p^2 k^2}{4} \right\} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\}, \quad (8.25)$$

mit der Konstanten $a_{\mathbf{k}}$. Diese ergibt sich zu

$$a_{\mathbf{k}} = \frac{m}{\kappa} \pi a_p^2 C_p \sum_{\mathbf{k}'} M_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'}^{-1}, \quad (8.26)$$

mit der Matrix

$$M_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} = \delta_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} + \left(\frac{m}{\kappa} - 1 \right) \frac{\pi a_p^2}{L^2} \exp\left\{ -\frac{a_p^2}{2} (k'^2 + \mathbf{k} \cdot \mathbf{k}') \right\}. \quad (8.27)$$

Analytisch kann keine einfache Inverse der Matrix $M_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'}$ gefunden werden. Daher wird versucht die \mathbf{k}' - bzw. \mathbf{k} -Abhängigkeit zu beseitigen. Durch geeignetes Umschreiben kann

$$\begin{aligned} \sum_{\mathbf{k}'} \exp\left\{ -\frac{a_p^2}{2} (k'^2 + \mathbf{k} \cdot \mathbf{k}') \right\} &= \sum_{\mathbf{k}'} \frac{1}{2} \exp\left\{ -\frac{a_p^2 k'^2}{2} \right\} \times \\ &\quad \times \left(\exp\left\{ -\frac{a_p^2}{2} (\mathbf{k} \cdot \mathbf{k}') \right\} + \exp\left\{ +\frac{a_p^2}{2} (\mathbf{k} \cdot \mathbf{k}') \right\} \right) \end{aligned} \quad (8.28)$$

derart umgeformt werden, dass immer zu jedem \mathbf{k} das passende $-\mathbf{k}$ im Summand steht. Der Ausdruck in den Klammern entspricht der Exponentialdarstellung des Kosinus Hyperbolicus [55]

$$2 \cosh(bx) \equiv \exp\{-bx\} + \exp\{+bx\}, \quad (8.29)$$

welcher, im betrachteten Parameterbereich, für kleine \mathbf{k} näherungsweise eins ist. Damit gilt

$$\sum_{\mathbf{k}'} \exp\left\{-\frac{a_p^2}{2} (k'^2 + \mathbf{k} \cdot \mathbf{k}')\right\} \simeq \sum_{\mathbf{k}'} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k'^2}{2}\right\}. \quad (8.30)$$

Da die Summation über \mathbf{k}' eine Konstante ergibt, wird

$$a = \frac{m\pi a_p^2 C_p}{\kappa \left(1 + \left(\frac{m}{\kappa} - 1\right) \frac{\pi a_p^2}{L^2} \sum_{\mathbf{k}'} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k'^2}{2}\right\}\right)} \quad (8.31)$$

eine von \mathbf{k} unabhängige Konstante. Daraus ergeben sich die genäherten minimierenden Moden

$$\hat{h}(\mathbf{k}, t) = \frac{m\pi a_p^2 C_p}{k^2 \kappa + (m - \kappa) \frac{\pi a_p^2}{L^2} k^2 \sum_{\mathbf{k}'} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k'^2}{2}\right\}} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{4}\right\} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}\} \quad (8.32)$$

und letztendlich das Verhältnis der freien zur effektiven Diffusionskonstante

$$\frac{D_0}{D_{\text{eff}}} = 1 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \frac{m^2 \pi^2 a_p^4 C_p^2}{\left(\kappa + (m - \kappa) \frac{\pi a_p^2}{L^2} \sum_{\mathbf{k}'} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k'^2}{2}\right\}\right)^2} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\}. \quad (8.33)$$

Diese Gleichung wird für die entsprechenden Parameter numerisch aufsummiert. Die erhaltenen Diffusionskonstanten geben sehr gut den qualitativen Verlauf der aus den Simulationen bestimmten Diffusionskonstanten wieder. Die entsprechenden Abbildungen 8.2 und 8.3 befinden sich im vorherigen Kapitel 8.1.

Teil IV

Zwei diffundierende Proteine

9 Effektives Wechselwirkungspotential

9.1 Analytischer Spezialfall $m = \kappa$

Im vorherigen Kapitel ist der Einfluss eines Proteins auf die Membrandynamik und die Diffusionskonstante diskutiert worden. In biologischen Systemen ist es allerdings eher unwahrscheinlich nur ein Protein in der Modellmembran anzutreffen. Befinden sich mehrere Proteine in der Modellmembran wird es zu weiteren Änderungen in der Membrandynamik kommen. Hierdurch wird natürlich auch das Diffusionsverhalten beeinflusst. Bevor diese Einflüsse untersucht werden, ist es entscheidend, die Wechselwirkung zwischen den Proteinen, welche durch die Membran vermittelt wird, zu untersuchen. Die zwei Proteine werden zur Bestimmung des Wechselwirkungspotentials (WWP) an einem zuvor festgelegten Ort \mathbf{R}_i festgehalten. i bezeichnet im Folgenden den Index des jeweiligen Proteins.

Um das WWP zu erhalten, wird die Abhängigkeit der *Freien* Energie vom Proteinabstand betrachtet. Exakter Weise wird die Differenz der *Freien* Energie zwischen abstandsabhängiger *Freier* Energie und der für große Abstände konstanten *Freien* Energie verwendet, da etwaige additive Konstanten keine weitere Bedeutung haben. Zur Berechnung der *Freien*-Energie wird die Definition

$$F \equiv -\frac{1}{\beta} \ln Z \quad (9.1)$$

mit der Zustandssumme

$$Z = \int \mathcal{D}[h(\mathbf{r}, t)] \exp\{-\beta \mathcal{H}_{2T}[h(\mathbf{r}, t)]\} \quad (9.2)$$

$$= \prod_{h(\mathbf{k}, t)} \int dh(\mathbf{k}, t) \exp\{-\beta \mathcal{H}_{2T}[h(\mathbf{k}, t)]\} \quad (9.3)$$

verwendet. Die *Helfrich*-Energie \mathcal{H}_{2T} für zwei Proteine wird analog der Berechnungen für ein Protein durchgeführt und kann durch Addition eines weiteren Terms für das Zweite Protein (5.5) aus der *Helfrich*-Energie für ein Protein \mathcal{H}_{1T} (5.9) erhalten werden

$$\mathcal{H}_{2T} = \mathcal{H}_{1T} + \mathcal{H}_1. \quad (9.4)$$

Für zwei Proteine, die sich nur durch ihren Ort \mathbf{R}_i und die spontane Krümmung $C_{p,i}$

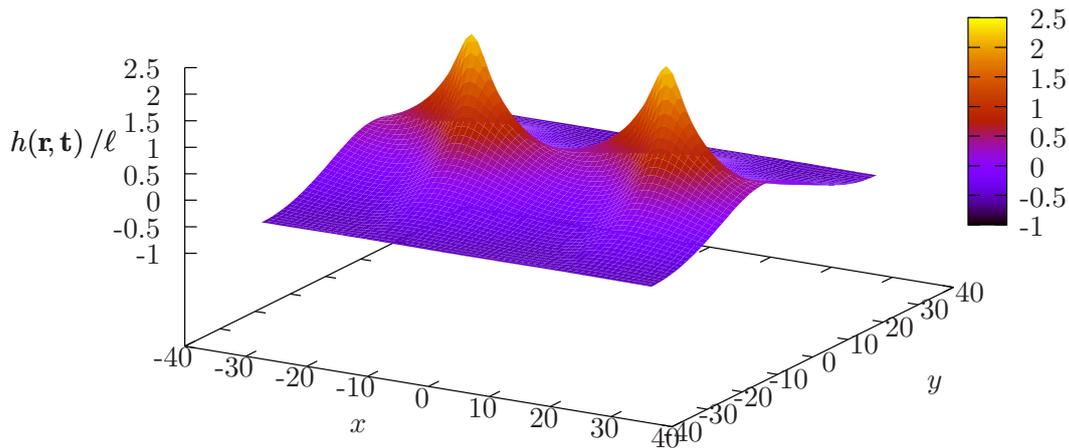


Abbildung 9.1 Beispiel einer mittleren Membrankonfiguration für zwei gleiche, im Abstand von $L/4$ festgehaltene, Proteine.

unterscheiden, erhält man im Spezialfall $m = \kappa$

$$\begin{aligned}
 \mathcal{H}_{2T}[h(\mathbf{k}, t)] &= \frac{\kappa}{2} \frac{1}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} k^4 h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t) \\
 &\quad - \frac{\pi a_p^2 \kappa}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} k^2 h(\mathbf{k}, t) \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \times \\
 &\quad \times (C_{p,1} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}_1\} + C_{p,2} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}_2\}) \\
 &\quad + \frac{\pi a_p^2 \kappa}{2} (C_{p,1}^2 + C_{p,2}^2). \tag{9.5}
 \end{aligned}$$

Eingesetzt in die Zustandssumme können die Berechnungen, wie für den Spezialfall $m = \kappa$ für ein Protein aus Kapitel 7, durchgeführt werden. Da, wie bereits erwähnt, nur die Differenz der *Freien* Energie einen Beitrag liefert, werden die ortsunabhängigen Konstanten abgezogen und es verbleibt

$$\Delta F(\mathbf{d}) = -\frac{1}{2L^2} \sum_{\mathbf{k}} \pi^2 a_p^4 \kappa C_{p,1} C_{p,2} \cos(\mathbf{k} \cdot \mathbf{d}) \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{2}\right\}. \tag{9.6}$$

Diese Gleichung ist nicht mehr von den konkreten Positionen \mathbf{R}_i der Proteine, sondern von ihrem relativen Abstand

$$\mathbf{d} \equiv \mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2 \quad d \equiv |\mathbf{d}| \tag{9.7}$$

abhängig. Die Summation kann für eine ausreichende Anzahl von dicht liegenden \mathbf{k} -Vektoren näherungsweise durch ein *Gauß*-Integral ersetzt werden. Dadurch vereinfacht sich (9.6) zu

$$\Delta F(d) \simeq -\kappa \frac{C_{p,1} C_{p,2}}{2} \pi a_p^2 \exp\left\{-\frac{d^2}{2a_p^2}\right\}. \tag{9.8}$$

Dies steht im Gegensatz zu anderen analytischen Arbeiten, bei denen für starre Objekte eine langreichweitige attraktive Wechselwirkung vorausgesagt wird [44, 46] bzw. die

Abhängigkeit der Änderung der *Freien* Energie vom Abstand mit $\ln(d)$ [32] bzw. mit $1/d^2$ [69] vorausgesagt wird. Dies kann an den dort verwendeten Randbedingungen (die Membranauslenkung ist entlang des Einschlussrandes gleich) und/oder an der Verwendung von steifen Scheiben liegen, während im Modell dieser Arbeit die Proteine biegsam sind und die Membranauslenkung entlang der Proteine variieren kann. Die Verwendung steifer Scheiben führt zudem dazu, dass die Änderung der *Freien* Energie durch die abstandsabhängige Entropieänderung [46, 32], analog zum *Casimir*-Effekt, zurückgeführt werden kann.

Die berechnete *Freie*-Energiedifferenz $\Delta F(d)$ weist nun zwei interessante Fälle auf, die durch die Krümmungen $C_{p,i}$ unterschieden werden. Für gleiche Vorzeichen der Krümmung ist $\Delta F(d)$ negativ, und es wird zu einer attraktiven Wechselwirkung kommen. Sind die Vorzeichen hingegen verschieden, wird die Wechselwirkung repulsiv sein. Diese grundlegenden Fälle werden nun genauer untersucht und mit Simulationen verglichen.

9.2 Simulationen

Für die Simulationen mit festgehaltenen Proteinen wird die diskrete Gleichung (6.2), wie bereits im Kapitel über die Simulationsmethode (Kap. 6) beschrieben, numerisch aufintegriert. Die notwendige Zeitabhängigkeit der Membranhöhe bei zwei Proteinen $\partial_t h(\mathbf{k}, t)$ kann leicht über (3.25) durch Einsetzen von \mathcal{H}_{2T} (9.5) bestimmt werden. Wie auch im vorherigen Abschnitt, Kap. 7, werden auch hier die verwendeten Größen in den Einheiten des Systems ausgedrückt. Die beiden eingesetzten Proteine sollen sich nur durch ihren Ort \mathbf{R}_i und die spontane Krümmung $C_{p,i}$ unterscheiden, wobei stets $|C_{p,1}| \ell = |C_{p,2}| \ell = 1$ gewählt wird. Der Radius $a_p = 2\ell$ und die Biegesteifigkeit $m\beta$ ist bei beiden Proteinen gleich. Um die *Freie* Energie in Abhängigkeit des Abstandes \mathbf{d} bestimmen zu können, werden die beiden Proteine in einem zu Beginn festgelegten Abstand festgehalten. Aus der Simulation kann die mittlere *Freie* Energie $\langle F \rangle$ über

$$\langle F \rangle = \beta^{-1} \ln \sum_j \exp\{-\beta \mathcal{H}_j\} \quad (9.9)$$

$$= \beta^{-1} \ln \left(\sum_j \exp\{-\beta \mathcal{H}_j - \beta \langle \mathcal{H}_j \rangle\} \right) + \langle \mathcal{H}_j \rangle \quad (9.10)$$

bestimmt werden. Da gleichzeitig auch die mittlere Energie $\langle \mathcal{H}_j \rangle$ bekannt ist, kann auch die mittlere Entropie

$$T \langle S \rangle = \langle \mathcal{H}_j \rangle - \langle F \rangle \quad (9.11)$$

als Funktion des Abstandes berechnet werden. Hierüber kann geprüft werden, ob im verwendeten Modellsystem die Entropie ebenfalls eine Abstandsabhängigkeit aufweist.

Zur Ermittlung des effektiven Wechselwirkungspotentials $\Delta F(\mathbf{d})$ wird die mittlere *Freie* Energie für große Abstände bestimmt und von der abstandsabhängigen mittleren *Freien* Energie abgezogen. Die Tiefe des Potentials f und der effektive Radius a_{eff} kann über die Gleichung

$$\Delta F(d) = -f \exp\left\{-\frac{d^2}{2a_{\text{eff}}^2}\right\} \quad (9.12)$$

aus den Daten extrahiert werden.

m	$f\beta$	$f\beta (d = 4)$	$a_{p,\text{eff}}/\ell$
5	-32.2	10.39	2.66
10	-50.324	18.49	2.8269
20	-76.095	25.52	2.7061

Tabelle 9.1 Tiefe des Wechselwirkungspotentials zwischen zwei gleichen Proteinen. Ergänzend ist die effektive Potentialtiefe für den minimalen Abstand $2a_p$ angegeben. In der rechten Spalte ist zudem der effektive Proteinradius angegeben.

9.2.1 Der Fall gleicher Krümmung

Zuerst wird der Fall gleicher Krümmung betrachtet. In Abbildung 9.2 ist die mittlere *Freie* Energiedifferenz ΔF als Funktion des Abstandes d für verschiedene $m\beta$ aufgetragen. Die senkrechte Linie repräsentiert den minimalen Abstand von $d = 2a_p$, den die Proteine einnehmen können ohne zu stark zu überlappen. Für den Spezialfall $m = \kappa$ ist der analytische Verlauf als Linie eingezeichnet. Diese verhält sich wie eine negative *Gauß*-Glocke um den Ursprung und fällt für kürzer werdende Abstände von 0 auf -30 ab. Damit handelt es sich um eine attraktive Wechselwirkung zwischen den Proteinen. Die Breite der Glockenkurve ist durch den Proteinradius gegeben. Das Simulationsergebnis für diesen Spezialfall folgt qualitativ diesem Verlauf. Die Bestimmung der *Freien* Energie aus der Simulation ist allerdings mit großen Fehlern behaftet. Auch über den Spezialfall hinaus folgen die Ergebnisse qualitativ dem analytischen Verlauf. Für wachsende $m\beta$ nimmt die Tiefe des Potentials $f\beta$ zu. Durchaus interessant ist die Tatsache, dass die *Gauß*-Glocke, welche die Ausdehnung der Proteine beschreibt, im Vergleich zur analytisch berechneten *Gauß*-Glocke für den Ein-Protein-Fall, bei geringerem Abstand breiter wird. Dies ist leicht zu begründen, da es für die Ausstülpung für geringe Abstände energetisch günstiger ist sich zu verbreitern, wodurch die Krümmungen insgesamt minimiert werden können. Damit weist jeder Abstand eine unterschiedliche Breite der Ausstülpung auf. Dies kann als ein abstandsabhängiger Proteinradius $a_p[d]$ aufgefasst werden, welcher sich im Wechselwirkungspotential durch einen effektiven Proteinradius $a_{p,\text{eff}}$ niederschlägt. Die bestimmten Werte für die Potentialtiefe und den effektiven Radius sind in Tabelle 9.1 aufgelistet.

Die mit dem Abstand zunehmende Breite der *Gauß*-Kurven kann in der Abbildung der Membranschnitte 9.3 abgeschätzt werden. Das hierzu verwendete Membranprofil wurde durch Mittelung über 2000 unterschiedliche Konfigurationen gebildet. Die Membranschnitte gehen entlang der Verbindungslinie der Proteine und sind für unterschiedliche Abstände eingezeichnet. Die jeweiligen durchgezogenen Linien entsprechen den Membrankonfigurationen, welche man aus der Rücktransformation der zur minimalen *Helfrich*-Energie führenden Moden $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ (11.22) erhält. Die gute Übereinstimmung ist deutlich zu erkennen. Die schwarzen Linien bezeichnen wieder den minimalen Abstand der Proteine.

Wie zu Beginn des Abschnitts bei (9.11) bereits erwähnt, kann über F auch TS bestimmt werden. Das Resultat ist im Schaubild 9.4 für mehrere $m\beta$ über dem Abstand d aufgetragen. Durch die Datenpunkte ist jeweils eine entsprechende Ausgleichsgerade gelegt. Es ist gut zu erkennen, dass die Entropie nicht dem qualitativen Verlauf von $\Delta F(d)$ folgt. Der Verlauf der Entropie kann, im Rahmen der numerischen Fehler bei der Bestimmung der *Freien* Energie, als waagrechte Gerade angenommen werden. Der so erhaltene konstante Wert, um $TS\beta = 180$, scheint, wenn überhaupt, nur gering von der Biegesteifigkeit der Proteine $m\beta$ abzuhängen.

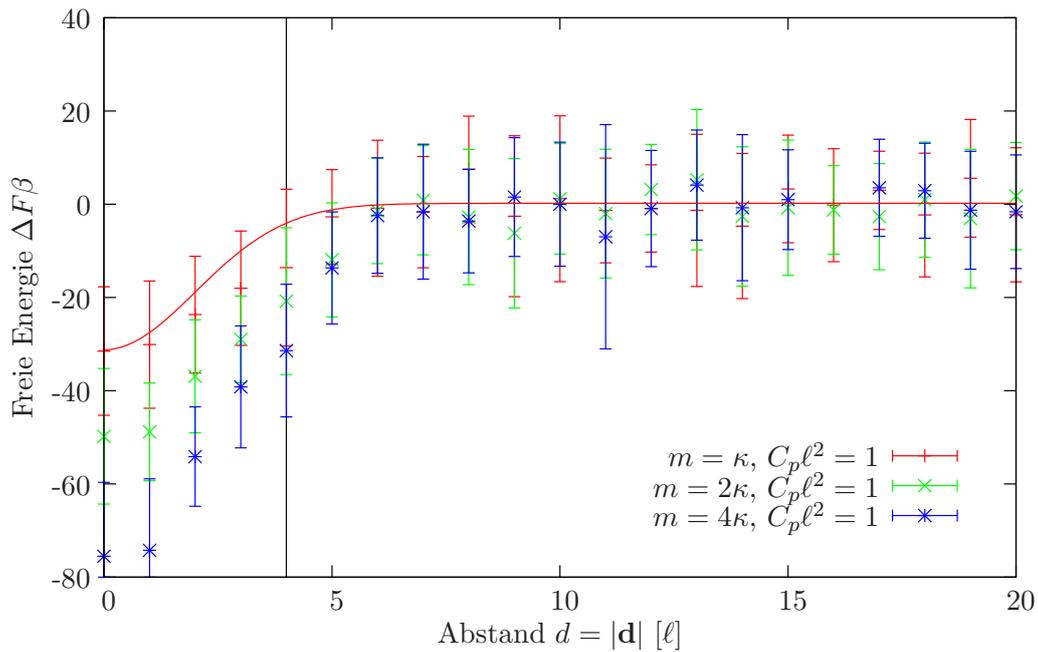


Abbildung 9.2 Differenz der *Freien Energie* $\Delta F(d)$ als Funktion des Betrags $d = |\mathbf{d}|$ des Abstandes im Fall gleicher Vorzeichen der Krümmung für zwei identische Proteine. Gut ist die zunehmende Tiefe des WWP für wachsende $m\beta$ zu erkennen. Die analytische Linie entspricht dem Spezialfall $m\beta = \kappa\beta = 5$. Die senkrechte Linie bei $2a_p = 4\ell$ ist die minimale Distanz, welche zwischen den Proteinen möglich ist.

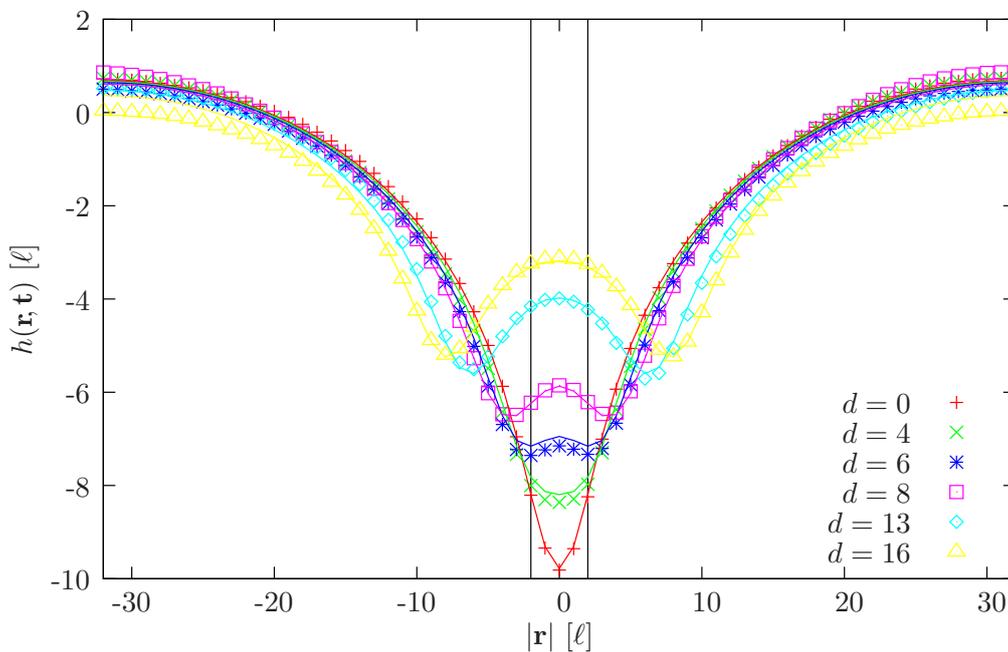


Abbildung 9.3 Membranschnitte, im Fall gleicher Krümmung, entlang der Verbindungslinie der Proteine. Der Ursprung befindet sich in der Mitte zwischen den Proteinen. Gut sind für große Abstände $d \equiv |\mathbf{d}|$ die zwei Ausbuchtungen der Membran, entsprechend den Proteinen, zu erkennen. Für kürzer werdende Abstände gehen diese Ausbuchtungen ineinander über und die Proteine sind nicht mehr voneinander trennbar.

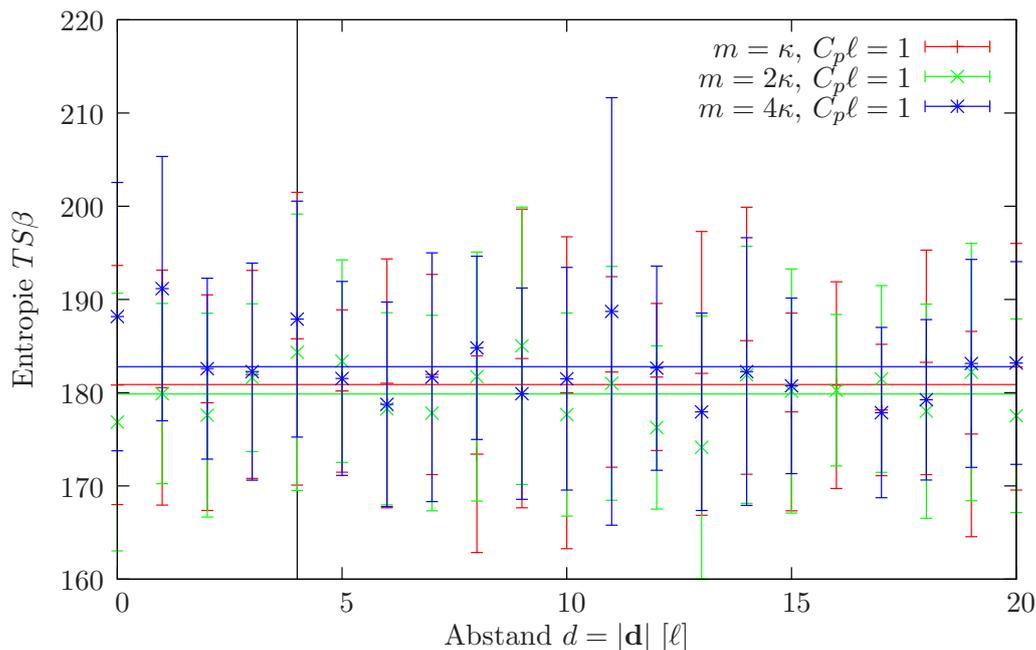


Abbildung 9.4 Entropie als Funktion des Abstandes. Die Geraden entsprechen einer Ausgleichsgerade durch die entsprechenden Simulationsdaten. Die Entropie kann, bei den in den Simulationen gewählten Parametern, im Bezug auf \mathbf{d} und $m\beta$ als Konstante aufgefasst werden.

9.2.2 Der Fall entgegengesetzter Krümmung

Auch im Fall entgegengesetzter Krümmungen folgt $\Delta F(d)$ qualitativ der analytischen Kurve, siehe Abb. 9.5. Die *Gauß*-Kurve um den Ursprung hat nun ein positives Vorzeichen und das Potential ist somit repulsiv. Im Gegensatz zur analytischen Kurve, welche der für gleiche Krümmungen an der X -Achse gespiegelten Kurve entspricht, wächst $\Delta F(d)\beta$ für kleine Abstände auf 80 an. Dies entspricht einer Abweichung um den Faktor 2.5 zur analytischen Rechnung. Zudem ist diese große Energiedifferenz für die betrachteten Parameter bzw. für biologische Systeme nicht plausibel. Betrachtet man die entsprechenden Membranschnitte in Abb.9.5, so kann man erkennen, dass die Membranflanke zwischen den Proteinen für kleiner werdende Abstände sehr steil wird. In diesen steilen Bereichen befinden sich in der Simulation nur sehr wenige Gitterpunkte. Dies führt zu Fehlern bei der Bestimmung der *Freien* Energie. Die farbigen Linien entsprechen wieder den Energie minimierenden Moden. Deutlich ist für Abstände kleiner $2a_p$ die Abweichung der analytischen Ergebnisse von den Simulationsergebnissen zu erkennen. In den weiteren Betrachtungen wird der Fall entgegengesetzter Krümmungen daher nicht weiter berücksichtigt.

9.2.3 Wahrscheinlichkeit für einen bestimmten Abstand

Nach der ausführlichen Betrachtung der *Freien* Energie ist es möglich die Wahrscheinlichkeit für bestimmte Abstände abzuschätzen. Dazu kann man davon ausgehen, dass die Wahrscheinlichkeit

$$\mathcal{P}'_d[d] \sim \exp\{-\Delta F(d)\beta\} = \exp\left\{a \exp\left\{-\frac{d^2}{2a_p^2}\right\}\right\} \quad (9.13)$$

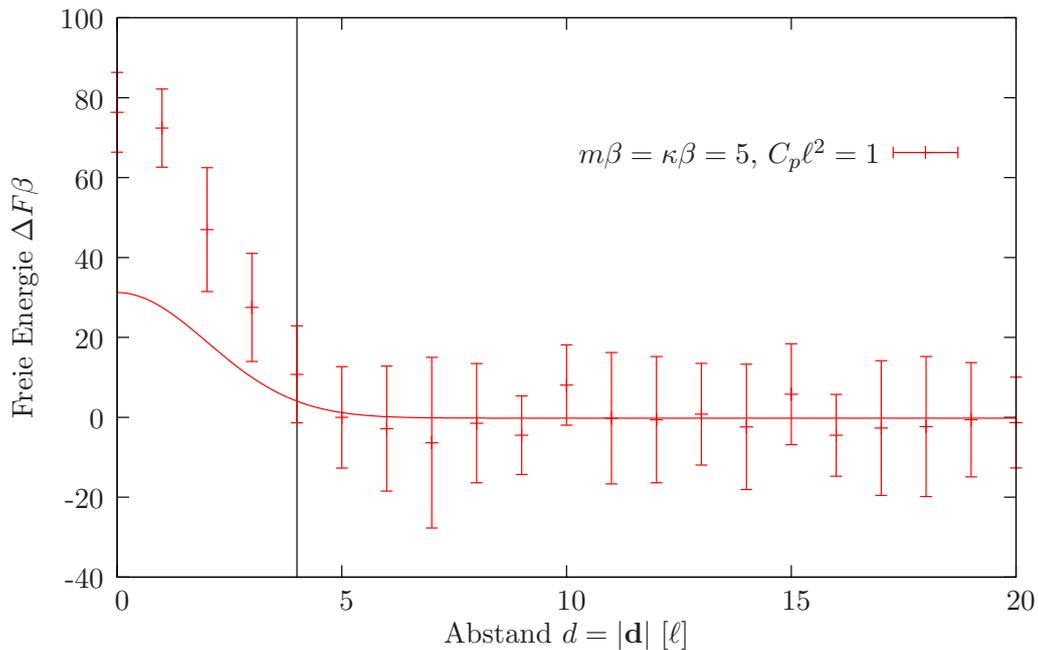


Abbildung 9.5 Differenz der *Freien Energie* $\Delta F(d)$ im Spezialfall $m\beta = \kappa\beta = 5$ für zwei gleiche Proteine, die sich jedoch im Vorzeichen der Krümmung unterscheiden. Die Simulation zeigt hier einen deutlich größeren Potentialanstieg als analytisch erwartet. Dies wird durch die sehr steilen Höhenunterschiede für kurze Proteinabstände verursacht, welche zu großen Fehlern in den Simulationen führen.

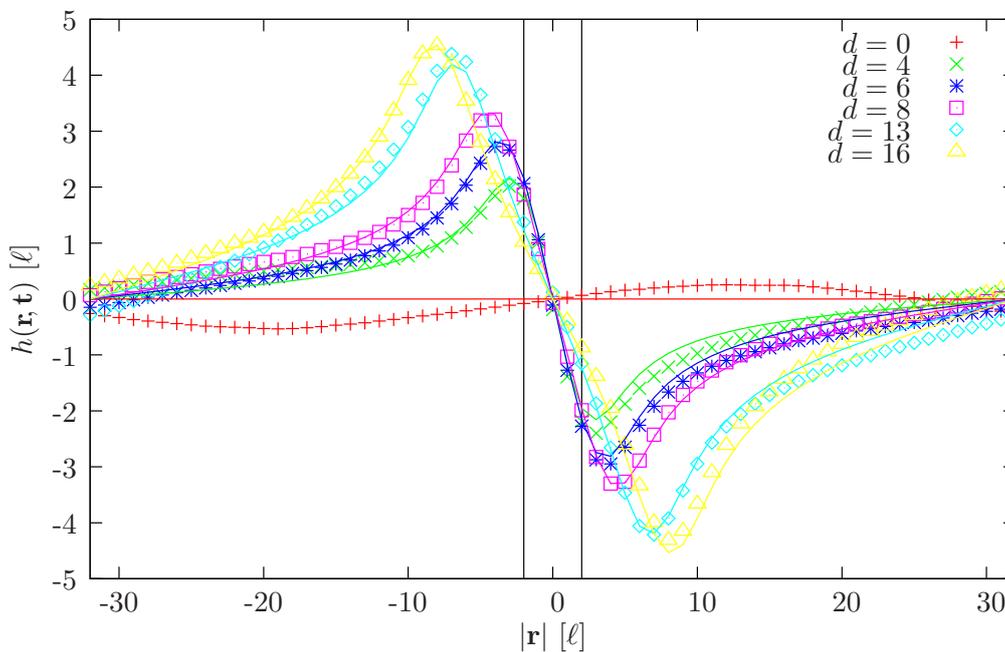


Abbildung 9.6 Membranschnitte im Fall entgegengesetzter Krümmung $C_{p,1} = -C_{p,2}$. Die beiden *Gauß*-Glocken überlappen sich stark für kurze Abstände d , wodurch ein Übergangsbereich mit starken Höhenunterschieden resultiert. Für diesen Bereich ist die Anzahl dazwischenliegender Gitterpunkte zu gering und verursacht die großen Abweichungen bei der Bestimmung des Wechselwirkungspotentials.

exponentiell von der Differenz der *Freien* Energie $\Delta F(d) \beta$ abhängig ist. Diese Wahrscheinlichkeit muss noch dahingehend normiert werden, dass die Wahrscheinlichkeit über alle Abstände eins ist. Hierzu setzt man ein Protein gedanklich in den Ursprung und bestimmt darüber den maximalen Abstand der Proteine im periodischen Gitter zu $L/2$. Somit erhält man die Norm

$$N = \int_0^{2\pi} d\phi \int_0^{L/2} dd d \mathcal{P}'_d[d], \quad (9.14)$$

hier in Polarkoordinaten. Damit ergibt sich die normierte Wahrscheinlichkeit für einen bestimmten Abstand zu

$$\mathcal{P}_d \sim \frac{1}{N} \exp\{-\Delta F(d) \beta\}. \quad (9.15)$$

Diese Größe kann ohne weitere Näherungen nur numerisch bestimmt werden. Dies wurde in der Arbeit jedoch nicht durchgeführt.

Für weitere Rechnungen in dieser Arbeit ist eine analytisch handhabbare Darstellung der vom Abstand abhängigen Wahrscheinlichkeit interessant. Mit dieser könnten weitere Mittelungen bei nachfolgenden Gleichungen durchgeführt werden. Ohne diese analytische Darstellung können in den nachfolgenden Rechnungen nur qualitative Abschätzungen über den Verlauf der Abstandswahrscheinlichkeit getroffen werden.

10 Verändertes Modenspektrum für zwei Proteine

Bei den Betrachtungen für ein eingebettetes Protein konnte ein Einfluss des Proteins auf die Dynamik der Membran aufgezeigt werden. Für die dort hergeleitete Gleichung der zeitunabhängigen Höhen-Höhen-Korrelationen (7.9) wird in diesem Kapitel eine für zwei Proteine gültige Version, im Grenzfall $m = \kappa$, vorgestellt. Dazu werden die entsprechenden Rechnungen mit der *Helfrich*-Energie für zwei Proteine \mathcal{H}_{2T} (9.5) durchgeführt. Dadurch erhält man die Höhen-Höhen-Korrelation für zwei gleiche Proteine

$$\langle h(\mathbf{k}, 0) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle = \frac{L^2}{\kappa\beta k^4} + \frac{\pi^2 a_p^4 C_p^2}{k^4} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} [2 + 2 \langle \cos(\mathbf{k} \cdot \mathbf{d}) \rangle] \quad (10.1)$$

mit dem Abstandsvektor $\mathbf{d} = |\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2|$ zwischen den Proteinen. Diese Gleichung ist immer noch indirekt von den Orten der Proteine abhängig, welche natürlich für die analytischen Rechnungen nicht zur Verfügung stehen. Dennoch kann über eine Abschätzung eine ortsunabhängige Form abgeleitet werden. Betrachtet man das effektive Wechselwirkungspotential für zwei gleiche Proteine in Abb. 9.2, so ändert sich die Freie Energie für größere Abstände nicht mehr. Für diesen Grenzfall haben diese Abstände dieselbe Wahrscheinlichkeit und sollten während der Simulation ausreichend oft in beliebigen Orientierungen auftreten. In diesem Fall wird bei der Mittelung über eine Vielzahl von Trajektorienpaaren die *Kosinus*-Funktion für jeden \mathbf{k} -Vektor mit $k > 0$ verschwinden. Damit kann im Fall der verschwindenden Wechselwirkung die Höhen-Höhen-Korrelation näherungsweise durch

$$\langle h(\mathbf{k}, 0) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle = \frac{L^2}{E(k)} \left(1 + 2 \frac{\pi^2 a_p^4}{L^2} \kappa C_p^2 \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} \right) \quad (10.2)$$

beschrieben werden. In den entsprechenden Simulationen, eine genauere Beschreibung befindet sich zu Beginn des Kapitels über die effektive Wechselwirkungsenergie in Kap. 9, werden die Proteine zu Beginn mit dem maximal möglichen Abstand $d = L/2$ in der Membran platziert und können sich während der Simulation frei bewegen. Die Simulationsdauer ist mit 3ms ausreichend kurz gewählt, so dass nur wenige Proteine in den Bereich der effektiven Wechselwirkung vorstoßen. In Abbildung 10.1 sind die Simulationsdaten der Höhen-Höhen-Korrelation für $m\beta = \kappa\beta = 5$ für verschiedene C_p , wie bereits in Kap. 7.2, um den Faktor $E(k)/L^2$ skaliert über $|\mathbf{k}| \ell$ aufgetragen. Die Simulationsdaten passen sehr gut zu den analytischen Verläufen für den Grenzfall verschwindender Wechselwirkung. Wie erwartet sieht man einen *Gauß*-förmigen Abfall der Höhen-Höhen-Korrelation, welche asymptotisch gegen eins geht. Die Amplitude der *Gauß*-Funktion ist proportional zu C_p^2 . In der nachfolgenden Abbildung 10.2 wird die Beschränkung $m = \kappa$ aufgehoben, und die Simulationsdaten für unterschiedliche $m\beta$ bei $\kappa\beta = 5$ sind ebenfalls skaliert aufgetragen. Auch hier haben die Proteine zu Beginn die maximale Distanz. Die einzelne analytische

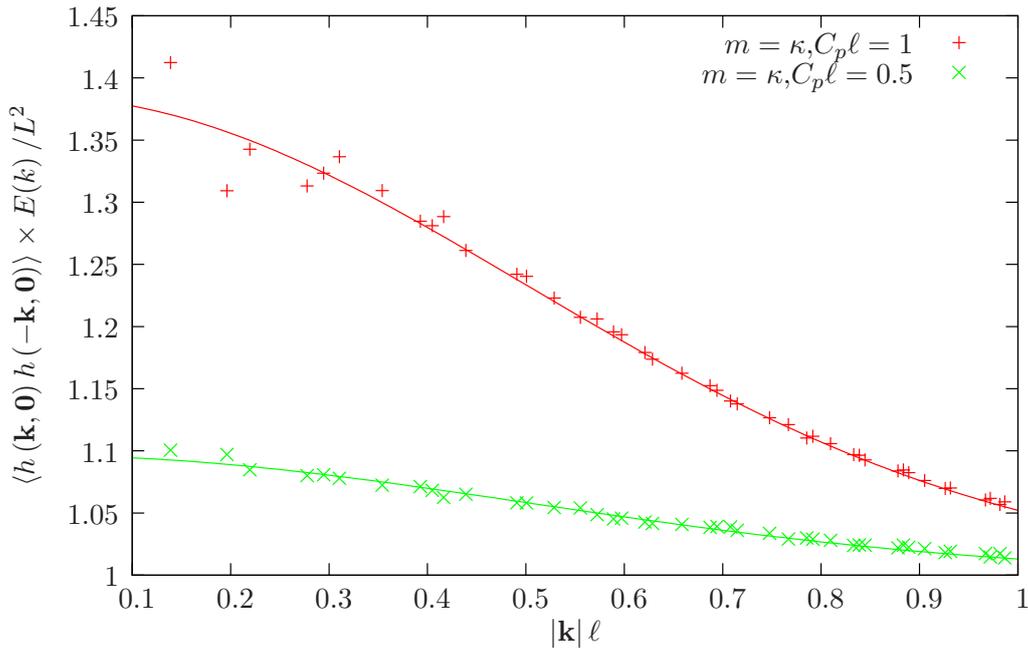


Abbildung 10.1 Höhen-Höhen-Korrelation für zwei weit entfernte, gleiche Proteine für $m\beta = \kappa\beta = 5$ zu gleichen Zeiten $t = t'$ als Funktion von k . Die Daten sind um den Faktor $E(k)/L^2$ skaliert, die Horizontale eins entspricht somit der ungestörten Höhen-Höhen-Korrelation. Die analytischen Rechnungen geben sehr gut den Verlauf der Höhen-Höhen-Korrelation wieder.

Kurve entspricht $m = \kappa$ bei $C_p = 1$. Die Kurvenverläufe sind ebenfalls *Gauß*-förmig, und die Amplitude wächst mit der Biegesteifigkeit $m\beta$ der Proteine. Für größere $m\beta$ wird der Zuwachs jedoch geringer.

Den zweiten Grenzfall erhält man durch Platzieren der Proteine mit minimalem Abstand $d = 2a_p$. Die Simulationsdauer ist hier ebenfalls 3ms, wodurch die Proteine in der Simulation eine Distanz von ca. 20ℓ zurücklegen können. Hier sind die Abstände nicht mehr gleich wahrscheinlich, zudem können sich die Proteinpaare nach einer Zeit τ_{esc} trennen. Hierdurch wird das Mittel der *Kosinus*-Funktion einen Wert größer Null aufweisen. Die resultierende Kurve wird somit oberhalb des Kurvenverlaufs für verschwindende Wechselwirkungen liegen. In der eingebetteten Graphik in Abbildung 10.2 sind diese Simulationsergebnisse für die veränderte Startbedingung der Proteine aufgetragen, zusätzlich zum vorherigen Schaubild ist noch der analytische Verlauf im Fall $\langle \cos(\mathbf{k} \cdot \mathbf{d}) \rangle = 1$ eingetragen. Die qualitativen Verläufe unterscheiden sich nicht von den bisherigen Kurven im Grenzfall verschwindender Wechselwirkungen. Im Spezialfall $m = \kappa$ gibt es eine sehr gute Übereinstimmung mit dem vorherigen Grenzfall. Dies ist nicht weiter verwunderlich, da für kurze Abstände bei den gewählten Parametern, wie man später im Kapitel 12 sehen wird, die Proteinpaare sich sehr schnell trennen und das System in den vorherigen Grenzfall übergeht. Für ansteigende $m\beta$ - hier verbleiben die Proteine länger beieinander - kommt es zu einer Verstärkung der Amplituden. Über die beiden Grenzfälle hinausgehende Aussagen über die Amplituden setzen eine analytisch verwendbare Wahrscheinlichkeit des Abstandes (9.15) voraus.

Zum Abschluss der Betrachtungen kann auch im Fall von zwei Proteinen aus der zeitunabhängigen Höhen-Höhen-Korrelation (10.2) eine effektive Biegesteifigkeit der Membran

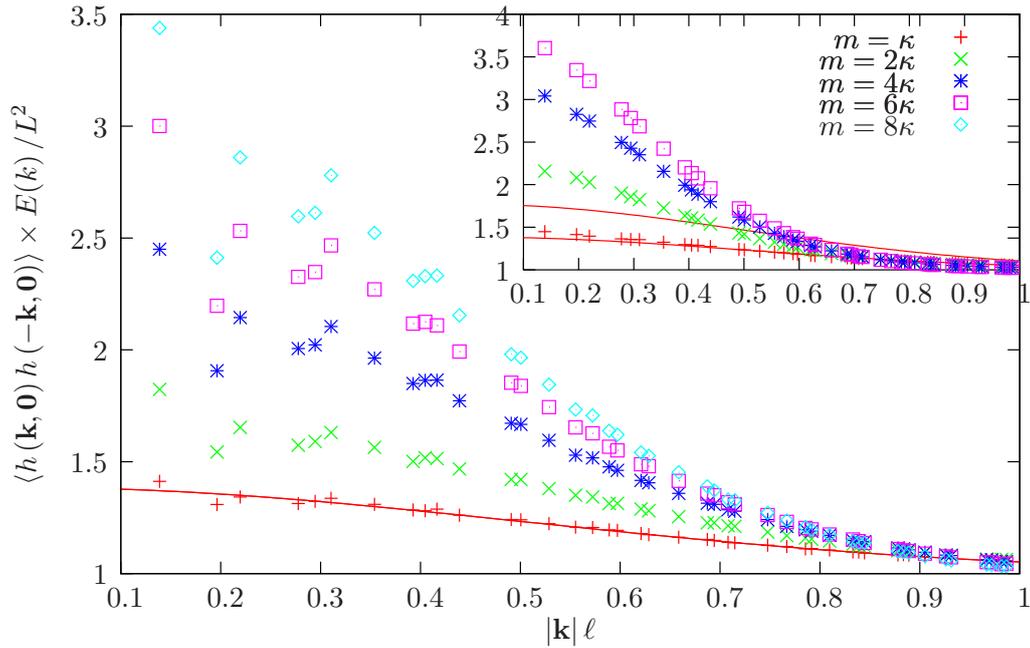


Abbildung 10.2 Höhen-Höhen-Korrelation bei zwei gleichen Proteinen für $m \neq \kappa$ zu gleichen Zeiten $t = t'$ über k für $C_{p,1}\ell = C_{p,2}\ell = 1$. Hier für zwei weit entfernte Proteine. Die analytische Kurve entspricht dem Spezialfall $m = \kappa$. Gut ist der Zuwachs der Korrelationsstärke für zunehmende ProteinstEIFigkeit $m\beta$ für kleine k zu erkennen. Trotz des Anstiegs nähern sich die Korrelationsfunktionen für alle $m\beta$ für große k wieder der ungestörten Höhen-Höhen-Korrelation an. Im eingebetteten Plot sind Höhen-Höhen-Korrelation für zwei Proteine mit einem, zu Beginn geringen Abstand, eingezeichnet. Die analytischen Linien entsprechen den minimalen (unten) und maximalen (oben) Werten der *Kosinus*-Funktion in (10.1). Für den Spezialfall $m = \kappa$ trennen sich die Proteine sehr schnell und die Höhen-Höhen-Korrelation entspricht dem Fall weit entfernter Proteine. Für wachsende Biegesteifigkeiten ist die Amplitude der Höhen-Höhen-Korrelation stets größer als für den Fall entfernter Proteine.

$$\kappa_{\text{eff}} = \kappa / \left(1 + 2 \frac{\pi^2 a_p^4}{L^2} \kappa C_p^2 \exp \left\{ -\frac{a_p^2 k^2}{2} \right\} \right) \quad (10.3)$$

extrahiert werden. Diese effektive Biegesteifigkeit ist immer kleiner als die ursprüngliche Biegesteifigkeit der Membran.

11 Einfluss auf die Diffusion bei zwei Proteinen

Nachdem im vorherigen Kapitel die Höhen-Höhen-Korrelation für die extremalen Proteinabstände bestimmt wurde, wird nun der Einfluss auf die Diffusion untersucht. Die Diffusion hängt dabei von der Höhen-Höhen-Korrelation ab und wird eine Ortsabhängigkeit aufweisen. In diesem Kapitel wird die Ortsabhängigkeit der Diffusion bzw. Mobilität soweit möglich untersucht. Dazu werden zuerst die Simulationsergebnisse präsentiert, um diese anschließend mit einer Erweiterung der Rechnungen für die effektive Diffusionskonstante [67] bzw. (8.23) zu vergleichen.

11.1 Simulationen

Die Simulationsdaten für die Diffusion entstammen den gleichen Simulationen wie die Höhen-Höhen-Korrelation des vorherigen Kapitels, Kap. 10. Wie erwähnt wird die Mobilität ortsabhängig sein. Diese Ortsabhängigkeit kann in den Simulationen nicht aufgelöst werden. Um eine ausreichende Ortsauflösung zu erhalten, müsste das MSD für Zeiten kleiner 1×10^{-5} s betrachtet werden. Innerhalb dieses Zeitraums ist die durch die Wechselwirkung verursachte Drift noch sehr stark. Auch eine Methode von Laio [70], über die Trajektorie der Proteine Aussagen zur ortsabhängigen Mobilität zu erhalten, scheitert, da hierfür nachträglich die Kräfte auf die Proteine zu jedem Zeitpunkt bekannt sein müssten.

Um dennoch ein Gefühl für die Abstandsabhängigkeit der Proteinbewegung zu erhalten, wird der abstandsabhängige mittlere Versatz $\langle \Delta \mathbf{R}_i \Delta \mathbf{R}_j \rangle$ pro Zeitintervall $\delta t = 1 \times 10^{-5}$ s untersucht. Diese Größe beinhaltet sowohl die Drift- als auch die Diffusionsanteile. i und j stehen dabei für die Indizes der Proteine. Für gleiche Indizes erhält man die mittlere Bewegung der Proteine, wohingegen für unterschiedliche Indizes die relative Bewegung der Proteine zueinander entscheidend ist. Ist die Korrelationsfunktion für verschiedene Indizes positiv, bewegen sich die Proteine eher in die gleiche Richtung. Für negative Werte bewegen sich die Proteine auseinander. In Abbildung 11.1 ist exemplarisch der mittlere quadratische Versatz als Funktion des Abstandes aufgetragen. Im Fall gleicher Indizes ist der Versatz für Abstände $d > 10\ell$ nahezu konstant bei ca. $1.6\ell^2$. Für kleinere Abstände steigt die Korrelation leicht an und fällt für $d < 7\ell$ schnell auf ca. $1.2\ell^2$ ab. Die waagrechte Linie bei $1.65\ell^2$ entspricht dem mittleren Versatz pro gewähltem Zeitintervall für die für große Zeiten aus dem MSD bestimmte Diffusionskonstante. Die gute Übereinstimmung mit dem aus der Simulation bestimmten Versatz lässt den Schluss zu, dass für große Abstände die Drift klein ist. Für kurze Abstände ist der Einfluss des Wechselwirkungspotentials sehr stark und die Proteine werden in ihrer Bewegung gehemmt. Für unterschiedliche Indizes ist die Korrelationsfunktion für große Abstände nahezu Null. Für kleiner werdende Abstände bildet sich für $d \simeq 6\ell$ ein Minimum mit negativem Vorzeichen der Korrelation aus. Dies

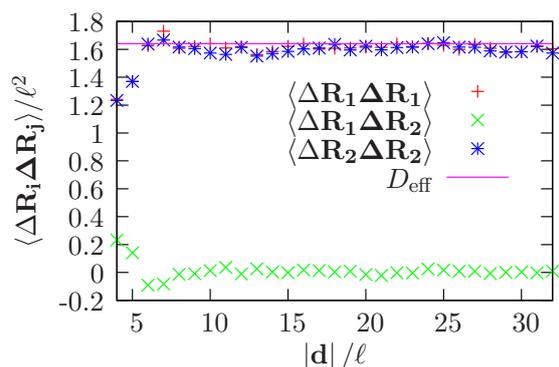


Abbildung 11.1 Beispiel für den ortsabhängigen Versatz, für $m\beta = \kappa\beta = 5$, $a_p = 2\ell$ und $C_p\ell = 1$. Die Linie entspricht dem erwarteten Versatz bei der aus dem MSD bestimmten effektiven Diffusionskonstanten D_{eff} .

bedeutet, dass die Proteine sich hier eher voneinander weg bewegen. Es findet eine Trennung der Proteinpaare statt. Für noch kleinere Abstände wird die Korrelationsfunktion wieder positiv und wächst auf den Wert $2.1\ell^2$ an. Aus dem positiven Vorzeichen folgt, dass die Proteine in diesem Bereich sich in jeweils ähnliche Richtungen bewegen.

Vorab wurde in diesem Abschnitt bereits die effektive Diffusionskonstante D_{eff} erwähnt. Diese wird aus dem MSD bestimmt. Dazu werden Simulationen mit je 500 Trajektorien für die Parameter $C_{p,1}\ell = C_{p,2}\ell = C_p\ell = 0.5/\ell$ und $C_p\ell = 1$ bei verschiedenen Proteinsteifigkeiten $m\beta$ durchgeführt. Um sicherzustellen, dass sich die Proteine tatsächlich unabhängig voneinander bewegen können, werden sie zu Beginn der Simulationen mit dem maximal möglichen Abstand $d = L/2$ platziert. Bei der gewählten Simulationsdauer von 3ms werden nur wenige Proteine in den Bereich der gegenseitigen Wechselwirkung vordringen. Die aufgezeigte Tendenz der gemeinsamen Bewegung für kurze Proteinabstände kann über die Schwerpunktsbewegung der Proteinpaare beschrieben werden. Um diese mit der ungestörten Diffusion zu vergleichen werden Simulationen mit den gleichen Parametern verwendet, jedoch die Proteine mit dem minimalen Abstand $d = 2a_p$ in der Membran platziert. Da sich die Proteine in diesem Fall voneinander weg bewegen können und die Schwerpunktsbewegung nur für kurze Abstände interessant ist, gehen in das MSD nur Proteinpaare ein, deren Abstand kleiner als 10ℓ ist. Für größere Abstände hat das effektive Wechselwirkungspotential keinen Einfluss mehr, und die Proteine bewegen sich unabhängig voneinander, siehe Abbildung 11.1. Natürlich können die Proteine während der Simulation wieder kleinere Abstände einnehmen, der Einfachheit halber gehen Proteinpaare nach dem ersten Überschreiten des Abstandes 10ℓ nicht in die weiteren Betrachtungen ein. Daher wird die Anzahl der in das MSD eingehenden Trajektorien für große Zeiten geringer und der auftretende Fehler größer. Um dennoch sinnvolle Ergebnisse zu erhalten, gehen nur Bereiche des MSD in die Bestimmung der Diffusionskonstanten ein, bei denen noch mindestens $2/3$ der Proteinpaare gebunden sind.

Die resultierenden Diffusionskonstanten D_{eff} (siehe Tabelle 11.1) sind, im Verhältnis zur freien Membrandiffusion D_0 , in der nachfolgenden Abbildung 11.2, als Funktion der Biegesteifigkeit $m\beta$ aufgetragen. Die Verläufe der Datenreihen für die unabhängige Diffusion $D_{\text{eff, frei}}$ entsprechen qualitativ den analytischen Rechnungen für ein Protein und stimmen auch quantitativ gut überein. Die systematische Abweichung der analytischen Kurve ergibt sich durch die Verwendung der allgemeinen Lösung für ein Protein. Dieser Effekt wird mit steigendem $C_p\ell$ größer. Die Diffusionskonstante des Schwerpunktes des Proteinclusters ist deutlich reduziert. In der Abbildung ist $D_{\mathbf{R}_s}/D_0$ aufgetragen, wobei im Bezug auf den Schwerpunkt das D_0 des Schwerpunkts gemeint ist, welches halb so

groß wie die ungestörte Diffusion eines freien Proteins ist. Da es sich beim betrachteten Cluster um zwei Proteine handelt, wird versucht die Schwerpunktsdiffusion mit den analytischen Rechnungen für ein Protein mit doppelter Fläche und der halben freien Diffusionskonstante zu vergleichen. Dieses Vorgehen liefert eine sehr gute Übereinstimmung mit den Simulationsergebnissen. Betrachtet man das Verhältnis aus $D_{\text{eff, frei}}/D_{\mathbf{R}_S}$ so findet man Verhältnisse zwischen 2 und 3. Diese starke Reduktion der Diffusionskonstante für die als gemeinsamer Cluster diffundierenden Proteine ist sehr interessant, da dieser Effekt in vielen Experimenten mit Membranproteinen und Kolloiden in und auf Membranen beobachtet wurde [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. Dort ist meist als Erklärung die Änderung des hydrodynamischen Radius und die damit verbundene Änderung der Mobilität mit dem natürlichen Logarithmus dieses Radius [8] oder - in neueren Korrekturen - mit dem inversen Radius [18] angeführt. In den genannten Experimenten reichen diese Theorien jedoch nicht aus, um die auftretenden Verhältnisse der Diffusion für freie Teilchen zur Clusterdiffusion zu erklären. Die gemessene Clusterdiffusion ist deutlich geringer als über Saffman und Delbrück [8] vorausgesagt. Da in diesen Experimenten zum einen Proteine in unterschiedlichen Aktivierungszuständen, mit einer eventuell eingehenden Geometrieänderung - sprich einer spontanen Krümmung - oder zum anderen Kolloide, welche die Membran verformen können, vorkommen, kann die auftretende Verringerung der Diffusionskonstanten über die Effekte des hydrodynamischen Radius hinaus eventuell auf die in dieser Arbeit vorgestellte membraninduzierte Wechselwirkung der Proteine und deren Schwerpunktsbewegung zurückgeführt werden.

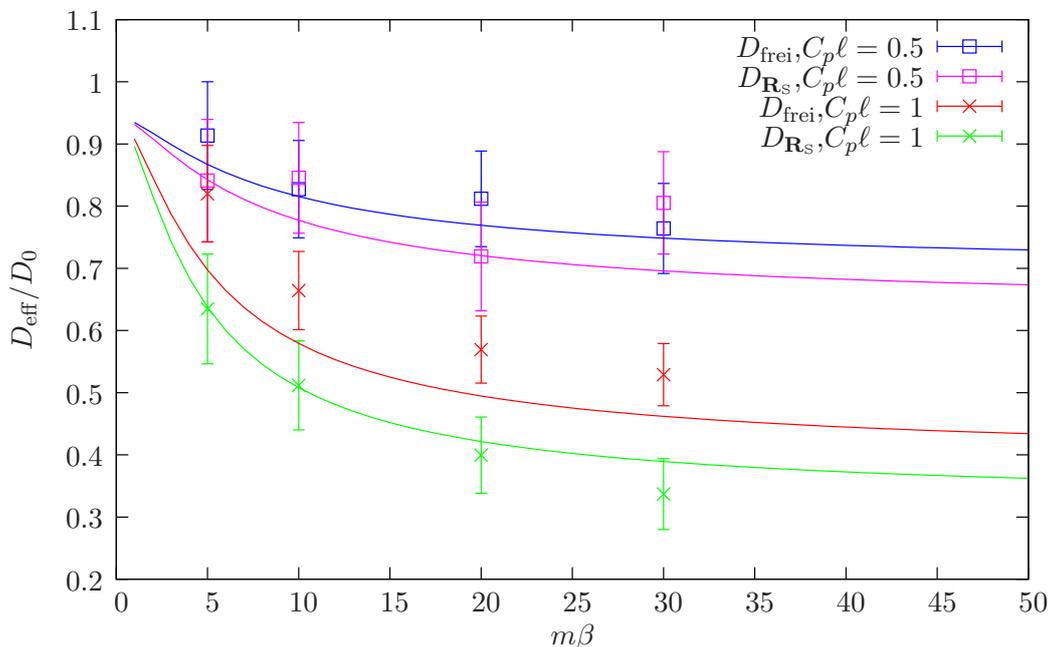


Abbildung 11.2 Proteindiffusion bei zwei Proteinen für unterschiedliche C_p für den freien und den gebundenen Fall. Für den ungebundenen Fall stimmt der qualitative Verlauf gut mit den Ergebnissen für ein Protein überein, jeweils die obere der beiden Kurvenverläufe. Im Fall des Proteinclusters (untere Kurven) erreicht man für eine Verdopplung der Fläche ($\pi\sqrt{2}a_p$) sehr gute Ergebnisse.

m	$C_P \ell = 1$		$C_P \ell = 0.5$	
	$D_{frei,2T}$	$D_{\mathbf{R}_S}$	$D_{frei,2T}$	$D_{\mathbf{R}_S}$
5	40994	15869	45682.65	21029
10	33217	12793.3	41367.55	21140
20	28463	9986.7	40590.5	17979
30	26445.5	8423.7	38207.85	20133

Tabelle 11.1 Diffusionskonstanten bei zwei Proteinen. Die Diffusionskonstanten der Proteincuster sind gegenüber der freien Proteindiffusion deutlich verringert. Die Clusterdiffusion für $C_P \ell = 0.5$ gibt nur einen groben Anhaltspunkt wieder. Hier trennen sich die Cluster sehr schnell, wodurch nur wenige Trajektorien zum MSD beitragen.

11.2 Effektive Diffusionskonstante für zwei Proteine

Analog zur Bestimmung der effektiven Diffusionskonstanten für ein Protein in Kapitel 8.3 wird hier die Rechnungen [67] für zwei Proteine erweitert. Bei zwei Proteinen bietet es sich an, die Rechnungen für den Schwerpunkt

$$\mathbf{R}_S \equiv \frac{\mathbf{R}_1 + \mathbf{R}_2}{2} \quad (11.1)$$

und den Abstand

$$\mathbf{d} = \mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2 \quad (11.2)$$

als neue Größen durchzuführen. Mit diesen Definitionen kann

$$\begin{aligned} L(\mathbf{R}_S, \mathbf{d}, h(\mathbf{k}, t)) &= \frac{1}{2\mu_p} \left[\left(2\dot{\mathbf{R}}_S + \mu_p \nabla_{\mathbf{R}_S} \mathcal{H} \right)^2 + \left(\dot{\mathbf{d}} + 2\mu_p \nabla_{\mathbf{d}} \mathcal{H} \right)^2 \right] \\ &\quad - \frac{1}{\mu_p} \left(\nabla_{\mathbf{R}_S} \mathcal{H} \dot{\mathbf{R}}_S + \nabla_{\mathbf{d}} \mathcal{H} \dot{\mathbf{d}} \right) \\ &\quad \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left| \dot{h}(\mathbf{k}, t) + \Lambda(k) \partial_h \mathcal{H} \right|^2 \end{aligned} \quad (11.3)$$

in der Wahrscheinlichkeit \mathcal{P} des Pfadintegrals (8.7) über die neuen Parameter \mathbf{R}_S und \mathbf{d} ausgedrückt werden. In der weiteren Rechnung wird die *Helfrich*-Energie \mathcal{H}_{2T} in eine *Taylor*-Entwicklung

$$\mathcal{H} \simeq \mathcal{H}[\hat{h}(\mathbf{k}, t)] + \frac{1}{2} \sum_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}} \kappa \beta V_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \Big|_{\hat{h}(\mathbf{k}, t)} \quad (11.4)$$

um das Energieminimum, mit den entsprechenden Moden $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$, für eine kleine Störung

$$y_{\mathbf{k}} \equiv h(\mathbf{k}, t) - \hat{h}(\mathbf{k}, t) \quad (11.5)$$

entwickelt. In dieser Entwicklung wird wieder die Abkürzung

$$\kappa \beta V_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} = \frac{\partial^2 \mathcal{H}}{\partial h(\mathbf{k}, t) \partial h(\mathbf{k}', t)} \Big|_{\hat{h}(\mathbf{k}, \mathbf{R}(t))} \quad (11.6)$$

verwendet. Die später benötigten Gradienten und Ableitungen

$$\partial_h \mathcal{H} = \kappa\beta \sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \quad (11.7)$$

$$\nabla_{\mathbf{R}_S} \mathcal{H} = \kappa\beta \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \left(y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}_S} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}, t) V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \right) \quad (11.8)$$

$$\nabla_{\mathbf{d}} \mathcal{H} = \kappa\beta \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \left(y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{d}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - \nabla_{\mathbf{d}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \right) \quad (11.9)$$

lassen sich wie für ein Protein berechnen. Verwendet man noch die totale zeitliche Ableitung der Moden

$$\dot{h}(\mathbf{k}, t) = \dot{y}_{\mathbf{k}} + \nabla_{\mathbf{R}_S} h(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}_S + \nabla_{\mathbf{d}} h(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{d}} \quad (11.10)$$

erhält man ohne Randterme

$$\begin{aligned} L(\mathbf{R}_S, \mathbf{d}, \hat{h}(\mathbf{k}, t)) &= \frac{1}{\mu_p} \dot{\mathbf{R}}_S^2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left(\left| \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}_S \right|^2 + 2\dot{y}_{\mathbf{k}}^* \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}_S \right) \\ &\quad + \frac{1}{4\mu_p} \dot{\mathbf{d}}^2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left(\left| \nabla_{\mathbf{d}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{d}} \right|^2 + 2\dot{y}_{\mathbf{k}}^* \nabla_{\mathbf{d}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{d}} \right) \\ &\quad + \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} |\dot{y}_{\mathbf{k}}|^2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{(\kappa\beta)^2}{2\Lambda(k)} (V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'})^2 \\ &\quad + \frac{\mu_p}{4} \left(\kappa\beta \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \left(y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{R}_S} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}, t) V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \right) \right)^2 \\ &\quad + \mu_p \left(\kappa\beta \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \left(y_{\mathbf{k}} \nabla_{\mathbf{d}} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} - \nabla_{\mathbf{d}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} y_{\mathbf{k}'} \right) \right)^2. \quad (11.11) \end{aligned}$$

Um hieraus die effektive Mobilität zu bestimmen, müsste über $y_{\mathbf{k}}$ integriert werden. Wie schon im vorherigen Fall wird eine Sattelpunktsnäherung durchgeführt und $y_{\mathbf{k}}$ durch die $\tilde{y}_{\mathbf{k}}$ ersetzt, welche zu einem minimalen L führen. Diese können über die *Euler-Lagrange*-Gleichung (8.17) berechnet werden. Für eine kleine Störung $\tilde{y}_{\mathbf{k}}$ verbleibt die linearisierte Differentialgleichung

$$\begin{aligned} -\Lambda(k) \frac{d^2 \hat{h}(\mathbf{k}, t)}{dt^2} &= \ddot{\tilde{y}}_{\mathbf{k}} - (\kappa\beta)^2 \left(\sum_{\mathbf{k}''} \Lambda(k'') \left(\sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k}'',\mathbf{k}'} \tilde{y}_{\mathbf{k}'} \right) V_{\mathbf{k}'',\mathbf{k}} \right) \\ &\quad - \frac{\mu_p (\kappa\beta)^2}{4} \left(\sum_{\mathbf{k}'',\mathbf{k}'} \tilde{y}_{\mathbf{k}''} V_{\mathbf{k}'',\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right) \sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \\ &\quad - \mu_p (\kappa\beta)^2 \left(\sum_{\mathbf{k}'',\mathbf{k}'} \tilde{y}_{\mathbf{k}''} V_{\mathbf{k}'',\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{d}} \hat{h}(\mathbf{k}', t) \right) \sum_{\mathbf{k}'} V_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \nabla_{\mathbf{d}} \hat{h}(\mathbf{k}, t). \quad (11.12) \end{aligned}$$

Die Summanden dieser Gleichung können wieder in einer positiv definiten Matrix verpackt werden, wodurch man die vereinfachte Gleichung

$$\ddot{\tilde{y}}_{\mathbf{k}} - (\kappa\beta)^2 \sum_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \tilde{V}_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} \tilde{y}_{\mathbf{k}'} = -\frac{d^2 \hat{h}(\mathbf{k}, t)}{dt^2} \quad (11.13)$$

erhält. Diese ist vom selben Typ wie (8.19), wodurch die Lösung $\tilde{y}_{\mathbf{k}}$ ebenfalls proportional zu $(\kappa\beta)^{-2}$ sein muss. Zurück in (11.11) können die Terme nach Ordnungen von $\kappa\beta$ sortiert werden, und man gelangt zum Ergebnis

$$L(\mathbf{R}_S, \mathbf{d}, \hat{h}(\mathbf{k}, t)) = \frac{1}{\mu_p} \dot{\mathbf{R}}_S^2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{R}}_S \right|^2 + \frac{1}{4\mu_p} \dot{\mathbf{d}}^2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{1}{2\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{d}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \dot{\mathbf{d}} \right|^2 + \mathcal{O}\left((\kappa\beta)^{-2}\right). \quad (11.14)$$

Diese Gleichung hat einen ähnlichen Aufbau wie für ein Protein (8.22). Dies wird besonders deutlich, wenn wieder die Orte der Proteine \mathbf{R}_i verwendet werden. Die so bestimmte Mobilitätsmatrix

$$\mu_{\text{eff},ij} = \begin{pmatrix} 1 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}_i} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \right|^2 & 1 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \nabla_{\mathbf{R}_j} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \nabla_{\mathbf{R}_i} \hat{h}^*(\mathbf{k}, t) \\ 1 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \nabla_{\mathbf{R}_i} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \nabla_{\mathbf{R}_j} \hat{h}^*(\mathbf{k}, t) & 1 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}_j} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \right|^2 \end{pmatrix} \quad (11.15)$$

enthält in der Diagonale jeweils die Mobilität für das einzelne Protein.

Um aus (11.14) Ergebnisse zu erhalten muss zunächst das Energieminimum bzw. die entsprechenden Moden $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ berechnet werden. Diese Moden können aus der Minimierung der *Helfrich*-Energie \mathcal{H}_{2T} (9.5)

$$\begin{aligned} 0 &\stackrel{!}{=} \frac{\partial \mathcal{H}_{2T}}{\partial h(\mathbf{k}, t)} & (11.16) \\ 0 &= k^2 h(-\mathbf{k}, t) \\ &+ \left(\frac{m}{\kappa} - 1 \right) \frac{\pi a_p^2}{L^2} \sum_{\mathbf{k}'} k'^2 h(\mathbf{k}', t) \exp \left\{ -\frac{a_p^2 (\mathbf{k} + \mathbf{k}')^2}{4} \right\} \times \\ &\times (\exp\{-i\mathbf{R}_1 \cdot (\mathbf{k} + \mathbf{k}')\} + \exp\{-i\mathbf{R}_2 \cdot (\mathbf{k} + \mathbf{k}')\}) \\ &+ \pi a_p^2 \frac{m}{\kappa} \exp \left\{ -\frac{a_p^2 k^2}{4} \right\} \times \\ &\times (C_{p,1} \exp\{-i\mathbf{R}_1 \cdot \mathbf{k}\} + C_{p,2} \exp\{-i\mathbf{R}_2 \cdot \mathbf{k}\}) \end{aligned} \quad (11.17)$$

bestimmt werden. Versucht man den Lösungsansatz

$$\hat{h}(\mathbf{k}, t) = \frac{a_{\mathbf{k}}}{k^2} \exp \left\{ -\frac{a_p^2 k^2}{4} \right\} (C_{p,1} \exp\{i\mathbf{R}_1 \cdot \mathbf{k}\} + C_{p,2} \exp\{i\mathbf{R}_2 \cdot \mathbf{k}\}) \quad (11.18)$$

mit der Konstante $a_{\mathbf{k}}$, kann diese zu

$$a_{\mathbf{k}} = \frac{m}{\kappa} \pi a_p^2 C_p \sum_{\mathbf{k}'} M_{\mathbf{k},\mathbf{k}'}^{-1}, \quad (11.19)$$

mit der Matrix

$$M_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} = \delta_{\mathbf{k},\mathbf{k}'} + \left(\frac{m}{\kappa} - 1 \right) \frac{\pi a_p^2}{L^2} (1 + \cos(\mathbf{k} \cdot \mathbf{d}) + \cos(\mathbf{k}' \cdot \mathbf{d})) \exp \left\{ -\frac{a_p^2}{2} (k'^2 + \mathbf{k} \cdot \mathbf{k}') \right\} \quad (11.20)$$

bestimmt werden. Für den Spezialfall $m = \kappa$ kann diese Matrix leicht invertiert werden, und es ergibt sich für zwei gleiche Proteine

$$a = \pi a_p^2 C_p \quad (11.21)$$

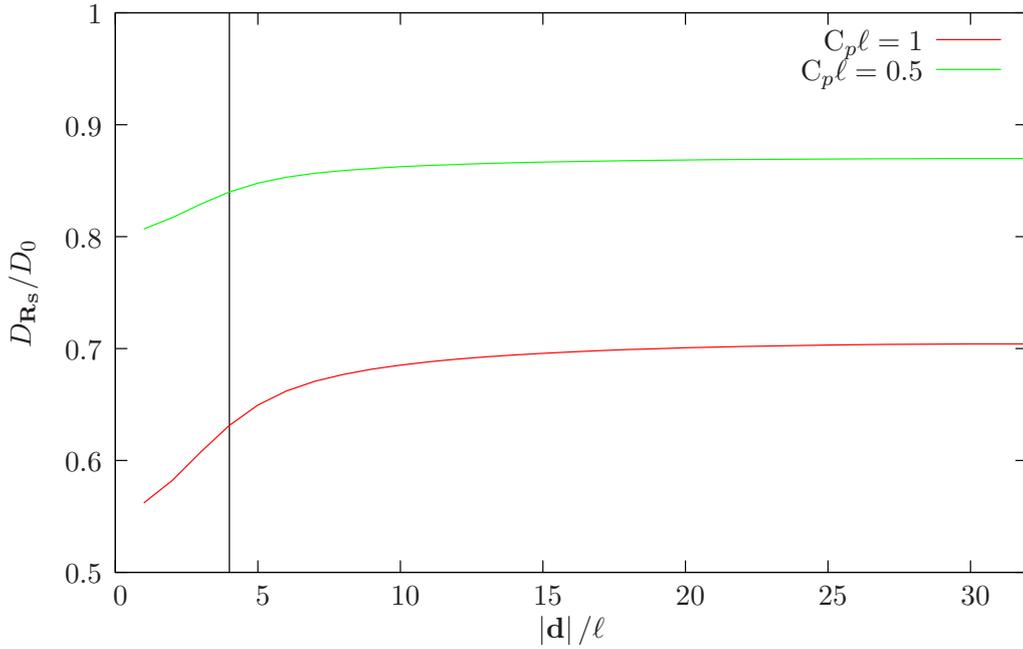


Abbildung 11.3 Abstandsabhängige Schwerpunktsdiffusion für unterschiedliche spontane Krümmungen. Da die Proteine den Abstand $2a_p$ nicht unterschreiten können, müssen nur Werte $|\mathbf{d}| > 4$ betrachtet werden, diese variieren nur gering.

und somit die Lösung

$$\hat{h}(\mathbf{k}, t) = -\frac{\pi a_p^2 C_p}{k^2} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{4}\right\} (\exp\{-i\mathbf{R}_1 \cdot \mathbf{k}\} + \exp\{-i\mathbf{R}_2 \cdot \mathbf{k}\}) \quad (11.22)$$

$$= -\frac{2\pi a_p^2 C_p}{k^2} \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{4}\right\} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}_S\} \cos\left(\frac{\mathbf{d}}{2} \cdot \mathbf{k}\right). \quad (11.23)$$

Diese Lösung setzt sich aus zwei Lösungen für ein einzelnes Protein bei $m = \kappa$ zusammen. Damit kann durch Einsetzen der Lösung in die aus (11.14) extrahierte Mobilität

$$\frac{\mu_p}{\mu_{\mathbf{R}_S}} = 2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}_S} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \right|^2 \quad (11.24)$$

die abstandsabhängige Diffusion des Schwerpunktes

$$\frac{D_p}{D_{\mathbf{R}_S}} = 2 + 4\pi^2 a_p^4 C_p^2 \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{k^2 \Lambda(k)} \cos^2\left(\frac{\mathbf{d}}{2} \cdot \mathbf{k}\right) \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} \quad (11.25)$$

bestimmt werden. $D_{\mathbf{R}_S}$ hängt hierbei noch vom Abstand der Proteine ab. Für eine gutartige analytische Abstandswahrscheinlichkeit (9.15) könnte eine mittlere Diffusionskonstante bestimmt werden. So kann nur die grobe Aussage getroffen werden, dass die mittlere Diffusionskonstante, wie sie in den Simulationen für den Schwerpunkt bestimmt wird, zwischen der Diffusion für $d = 4$ und $d = 10$ liegen muss. Die abstandsabhängige Diffusionskonstante ist im Verhältnis zur freien Diffusion in Abb. 11.3 als Funktion des Proteinabstandes d aufgetragen. Für große Abstände nähert sich das Verhältnis $D_{\mathbf{R}_S}/D_0$ asymptotisch 0.71, für $C_p \ell = 1$, und 0.86, für $C_p \ell = 0.5$, an. Für kürzere Abstände fällt das Verhältnis auf

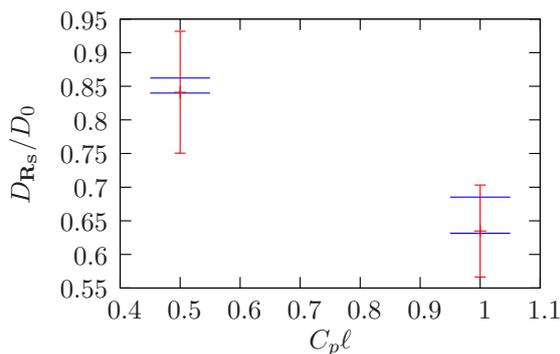


Abbildung 11.4 $D_{\mathbf{R}_S}/D_0$ für die beiden unterschiedlichen $C_p l$. Die waagrechten Linien entsprechen den extremalen Werten für die ortsabhängige Diffusion. Diese Werte liegen innerhalb der Fehlergrenzen der Simulationen.

unter 0.6 ($C_p l = 1$) und 0.4 ($C_p l = 0.8$) ab. Die Differenz dieser extremalen Werte für jedes $C_p l$ ist dabei kleiner als der Fehler bei der Bestimmung der Diffusionskonstante aus dem MSD. Dies ist gut in Abbildung 11.4 zu erkennen. Hier ist $D_{\mathbf{R}_S}/D_0$ für die beiden unterschiedlichen spontanen Krümmungen aufgetragen. Die jeweiligen waagrechten Linien entsprechen den extremalen Werten für das ortsabhängige $D_{\mathbf{R}_S}$, welche in den zugehörigen Fehlergrenzen der Simulationsergebnisse liegen. Für die Diffusion des einzelnen Proteins ergibt sich im Spezialfall $m = \kappa$ ein zunächst irritierendes Ergebnis. Durch Bilden des Gradienten nach einem Proteinort \mathbf{R}_i verliert man jegliche Abstandsabhängigkeit für die Proteindiffusion, entsprechend der Diagonalen in (11.15). Die Abstandsabhängigkeit verbleibt nur in den Nebendiagonalen. Dies widerspricht jeglicher Intuition, da hierdurch das effektive Wechselwirkungspotential für kleine Abstände keinen Einfluss auf die Diffusion hätte. Die fehlende Abstandsabhängigkeit wird wohl durch Näherungen bei der Herleitung von (11.14) verursacht werden. Für $m \neq \kappa$ kann man bereits bei der Bestimmung der minimierenden Moden, speziell bei der Konstante a (11.19), erkennen, dass auch bei den gemachten Näherungen eine Abhängigkeit der Mobilität vom Proteinabstand \mathbf{d} auftreten wird. Dieser Einfluss ist jedoch bei zwei Proteinen sehr gering; dies ist in Abbildung 11.2 zu erkennen. Hier entsprechen, wie im dortigen Kapitel beschrieben, die Linien der Diffusion für ein einzelnes Protein in der Membran, wobei für zwei Proteine eine Tendenz zu einer schnelleren Diffusion zu erkennen ist, was bereits durch die Verwendung der minimierenden Moden für ein Protein begründet wurde. Für bessere analytische Resultate, welche auch für $m \neq \kappa$ gültig sind, müsste für die Matrix (11.20) eine inverse Matrix berechnet werden.

12 Lebensdauer der Proteinpaaire

Nachdem für die Betrachtungen der Diffusionskonstanten zwischen einem gebundenen und ungebundenen Zustand unterschieden wird, kommt direkt die Frage nach der Lebensdauer τ_{esc} eines solchen Miniclusters auf. Prinzipiell ist die Lebensdauer durch die Form des Potentials gegeben. Die ungünstige Potentialform, *Gauß*-Funktion, führt für die Aufenthaltswahrscheinlichkeit eines Proteins (9.15) auf eine *Gauß*-Funktion im Exponenten einer Exponentialfunktion. Für eine geschickte Entwicklung könnte in weiteren Arbeiten die Lebensdauer der Paare abgeschätzt werden. Ähnliche Problemstellungen und mögliche Lösungsansätze sind in [71, 72] beschrieben. In dieser Arbeit werden jedoch ausschließlich Simulationsergebnisse ohne weitere analytische Betrachtung präsentiert.

Die dazu durchgeführten Simulationen entsprechen denen für den Schwerpunkt (Kap. 11). Die Lebensdauer wird über die abnehmende Anzahl Paare

$$N_C = N_{C,0} \exp\left\{-\frac{|t - t'|}{\tau_{\text{esc}}}\right\} \quad (12.1)$$

bestimmt. Proteine mit einem Abstand $d > 10\ell$ gelten als getrennt und werden nicht weiter betrachtet, beziehungsweise können nicht erneut zu einem Paar zusammen gehen. Für unterschiedliche $m\beta$ und $C_p\ell$ ist die über die Zeit abnehmende Anzahl Paare in den Abbildungen 12.1 und 12.2 dargestellt. In diesen Abbildungen entspricht τ_{esc} der Steigung des Kurvenverlaufs. Beim Betrachten stellt man fest, dass die Lebensdauer mit der Biegesteifigkeit der Proteine $m\beta$ zunimmt und für kleinere $C_p\ell$ abnimmt. Für große $C_p\ell$ und $m\beta > 10$ ist die Wechselwirkung der Proteine so stark, dass sich im Verlauf der Simulationszeit von 5ms kein Paar getrennt hat. Dadurch wird die Lebensdauer für größere $m\beta$ im Bereich mehrerer Sekunden liegen und damit jenseits einer sinnvollen Simulationsdauer. Das Anwachsen der Lebensdauer mit $m\beta$ ist nicht überraschend. Bereits die Potentialtiefe der Wechselwirkung Abb. 9.2 bzw. die Abstandswahrscheinlichkeit (9.15) deuteten auf diesen Verlauf hin. In Tabelle 12.1 sind die aus den Steigungen der Kurven in den Abbildungen 12.1 und 12.2 bestimmten Zahlenwerte für die Lebensdauer aufgelistet. Zum Vergleich: Die reine Diffusionszeit bis zur Trennung der eines Paares kann auf 1×10^{-4} s abgeschätzt werden. In einer weiteren Abbildung ist die Lebensdauer über der Biegesteifigkeit $m\beta$ aufgetragen. Die Lebensdauer scheint bei den vorliegenden Datenpunkten linear von $m\beta$ abzuhängen, wird aber aufgrund der Abstandswahrscheinlichkeit (9.15) eher exponentiell sein. Um diesen Verlauf besser abschätzen zu können, müssten sehr lange Simulationen für große $m\beta$ durchgeführt werden.

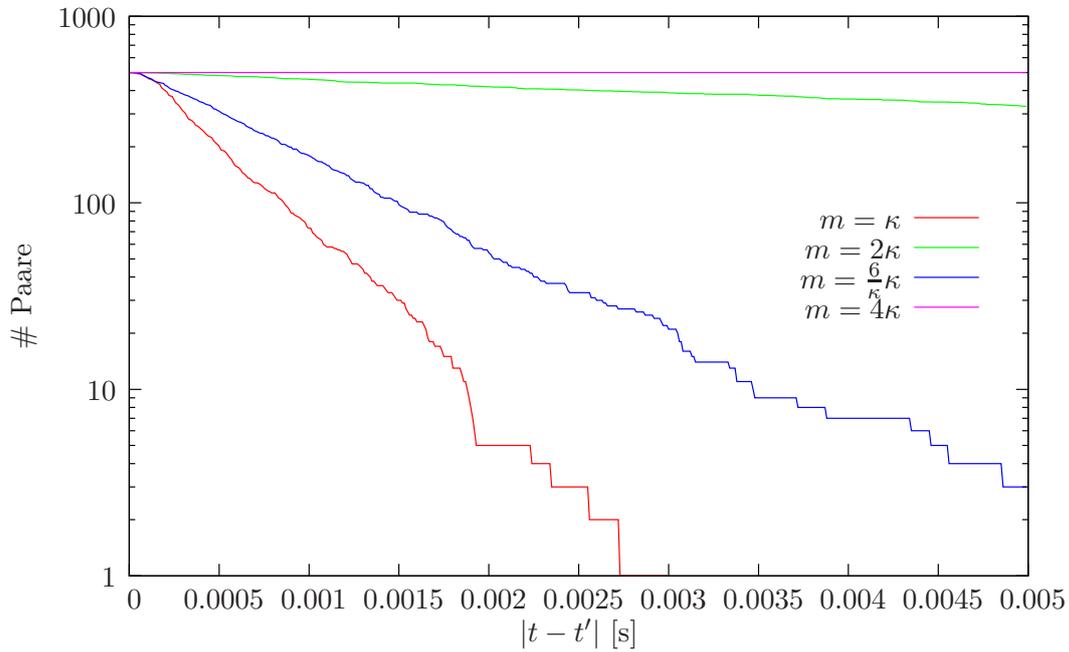


Abbildung 12.1 Zeitliche Abnahme der Paare für unterschiedliche $m\beta$ und $C_{p\ell} = 1$. Für große $m\beta$ trennen sich auf der betrachteten Zeitskala keine Paare.

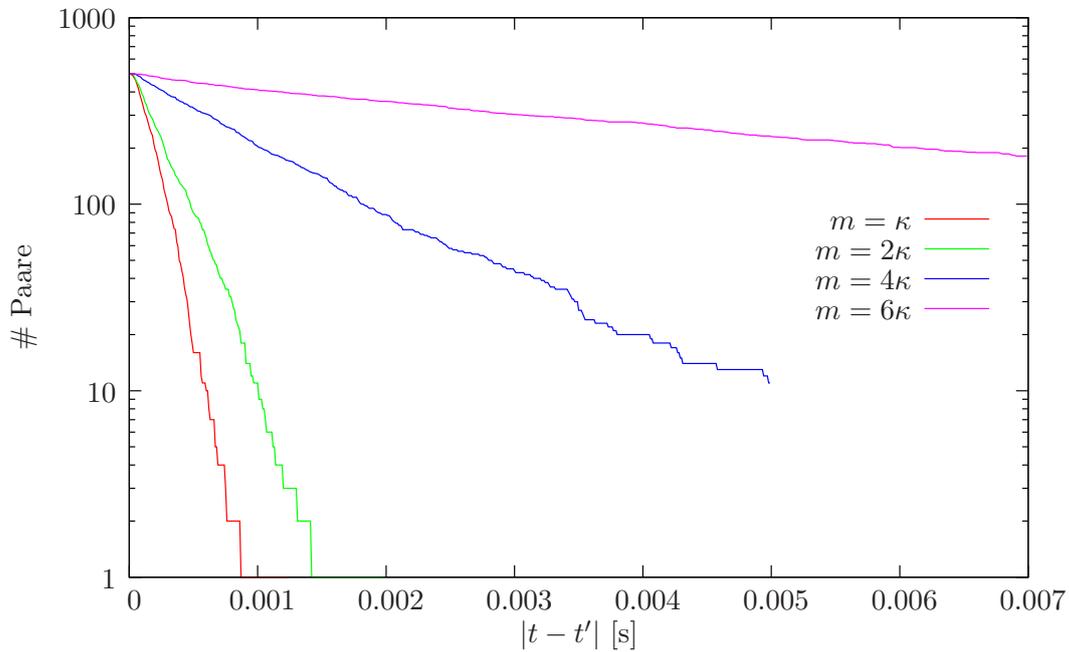


Abbildung 12.2 Zeitliche Abnahme der Paare für unterschiedliche $m\beta$ und $C_{p\ell} = 0.5$. Hier trennen sich auch für große $m\beta$ ausreichend viele Paare um die Lebensdauer bestimmen zu können.

Tabelle 12.1 Übersicht über die aus den Simulationen bestimmte Paarlebensdauer τ_{esc} , in Sekunden, für unterschiedliche Biegesteifigkeiten $m\beta$ und spontane Krümmungen $C_{p\ell}$.

m	$C_{p\ell} = 0.5$	$C_{p\ell} = 1$
5	2.040×10^{-4}	5.54×10^{-4}
6	-	9.60×10^{-4}
10	3.009×10^{-4}	1.21×10^{-2}
20	1.172×10^{-3}	$> 2.49 \times 10^0$
30	4.854×10^{-3}	$> 3.49 \times 10^0$

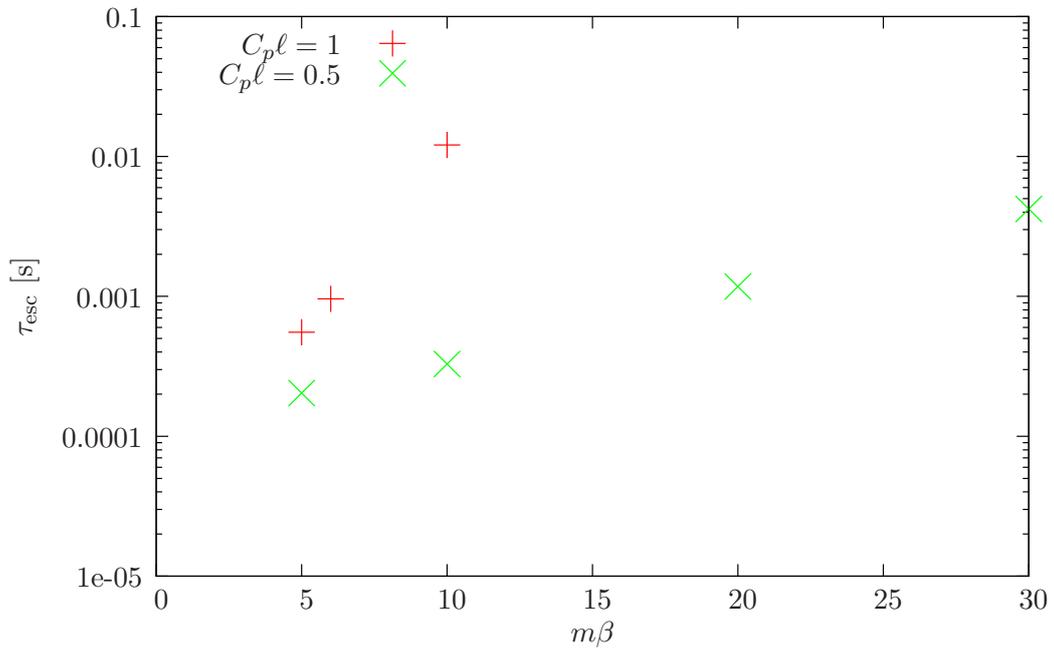


Abbildung 12.3 Die Lebensdauer der Proteinpaare ist für die beiden untersuchten $C_{p\ell}$ als Funktion von $m\beta$ aufgetragen. Ein analytischer Verlauf ist nicht bekannt, die Form des effektiven Wechselwirkungspotentials deutet jedoch darauf hin, dass dieser exponentiell ist.

Teil V

Diskussion und Ausblick

13 Vergleich ein und zwei Proteine

Nach den vorangegangenen Betrachtungen für ein und zwei Proteine, werden die gefundenen Ergebnisse zusammengefasst und wo möglich gegenübergestellt. Soweit es sinnvoll ist, werden auch Aussagen für mehr als zwei Proteine getroffen. Der Aufbau des Kapitels folgt weitestgehend dem Aufbau der bisherigen Arbeit. Zunächst werden die Modenspektren und im Anschluss die Diffusion analysiert um von hier die effektiven Wechselwirkungen und die Paarlebensdauer zu betrachten.

Zuerst wird das zeitunabhängige Modenspektrum betrachtet. Hier ist es in beiden Fällen möglich, für $m = \kappa$, einen analytischen Ausdruck zu finden, welcher das jeweilige gemessene Modenspektrum sehr gut beschreibt. Dieser Ausdruck kann für eine geringe Teilchenzahl auf N_P Proteine mit der Dichte

$$\rho \equiv N_P \pi a_p^2 / L^2 \quad (13.1)$$

erweitert werden:

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle = \frac{L^2}{E(k)} \left(1 + \rho \kappa C_p^2 \pi a_p^2 \exp\left\{ -\frac{k^2 a_p^2}{2} \right\} \right). \quad (13.2)$$

Die Gleichung ist jedoch nur gültig, wenn sich die Proteine die meiste Zeit außerhalb der gegenseitigen Wechselwirkungsbereiche aufhalten. Wie man aus der Formel erkennen kann, ändert sich die Höhen-Höhen-Korrelation entsprechend der Exponentialfunktion nur für \mathbf{k} -Vektoren mit einem Betrag kleiner als eine inverse Längeneinheit. Der Zuwachs der Amplituden ist dabei von der spontanen Krümmung C_p und dem Proteinradius a_p abhängig. Für $m \neq \kappa$ wachsen die Amplituden zusätzlich mit der Biegesteifigkeit der Proteine und mit der Teilchenzahl an. Da in Experimenten oft unabhängig von der Art und Anzahl der Einschlüsse die Biegesteifigkeit der Membran bestimmt wird, ist es interessant den Einfluss der Einschlüsse auf die effektive Biegesteifigkeit zu bestimmen. Dies kann aus den analytischen Rechnungen für $m = \kappa$ bestimmt werden:

$$\frac{\kappa}{\kappa_{\text{eff}}} = \left(1 + \kappa \rho \pi a_p^2 C_p^2 \exp\left\{ -\frac{a_p^2 k^2}{2} \right\} \right). \quad (13.3)$$

Hier gilt wieder die Einschränkung geringer Dichten. Aufgrund der Formel erkennt man sofort, dass das gemessene κ_{eff} immer kleiner als die tatsächliche Biegesteifigkeit der Membran ist. Dieser Effekt wird durch steifere Einschlüsse verstärkt, wobei das Verhältnis für steifer werdende Proteine nach unten begrenzt zu sein scheint. Dies ist auch aus physikalischer Sicht durchaus zu erwarten, da die Biegesteifigkeit nicht gegen Null gehen kann. Die Membran wird jedoch im physikalischen Sinn nicht weicher, sondern die Definition der Biegesteifigkeit der Membran, über die Amplitude der Höhen-Höhen-Korrelation, führt zu dieser vermeintlichen Reduktion der effektiven Biegesteifigkeit der Membran.

Für ein einzelnes Protein kann im Sonderfall $m = \kappa$ die Zeitabhängigkeit der Höhen-Höhen-Korrelation bestimmt werden. Hier finden sich die beiden Zeitskalen des Gesamtsystems wieder. Für kurze Zeiten dominiert die Zeitskala der Membran $\tau_M(k)$, und für lange Zeiten zerfällt die Korrelation auf der Zeitskala der Diffusion $\tau_D(k)$. Diese Tatsache kann auch für Experimente eine Rolle spielen. Für die Relevanz ist die Übergangszeit τ_{co} zwischen den Zeitskalen entscheidend. Diese konnte bestimmt werden und deutet für experimentell relevante Systeme auf eine prinzipielle Beobachtbarkeit der zwei Zeitskalen hin.

Aufgrund der Unterschiede in den Modenspektren ergeben sich ebenfalls Abweichungen für die effektiven Diffusionskonstanten, siehe Tabelle 13.1 und 13.2. Allgemein kann die Aussage getroffen werden, dass die Diffusion für zwei Proteine in der Membran, gegenüber einem einzelnen Protein, leicht erhöht ist. Dies ist durch die stärkeren Amplituden der Höhen-Höhen-Korrelation erklärbar. Abgesehen von dieser Tatsache ist die quantitative Verringerung der Diffusion für steigende $m\beta$ und $C_p\ell$ vergleichbar. Im Fall von zwei Proteinen kann, für kurze Proteinabstände, die Bewegung des Schwerpunktes als eine Art Paarbewegung bestimmt werden. Wie man sich leicht überlegen kann, ist diese Schwerpunktsbewegung halb so schnell wie die jeweilige diffusive Bewegung der beiden Proteine. Dieses als Paar bezeichnete Objekt aus zwei Proteinen weist in den Simulationen im Vergleich zur freien ungestörten Diffusion um den Faktor zwei bis drei reduzierte Diffusionskonstanten auf.

Analytisch kann über einen Pfadintegralansatz eine Gleichung für die effektive Diffusionskonstante abgeleitet werden. Für ein bzw. zwei Proteine mit großem Abstand erhält man die gleiche Form

$$\frac{D_0}{D_{\text{eff}}} = 1 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \right|^2, \quad (13.4)$$

die sich nur durch die jeweiligen Moden $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ für das Energieminimum unterscheiden. Einen ähnlichen Ausdruck kann man auch für die Schwerpunktskoordinate der zwei Proteine finden:

$$\frac{D_0}{D_{\mathbf{R}_s}} = 2 + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\mu_p}{\Lambda(k)} \left| \nabla_{\mathbf{R}_s} \hat{h}(\mathbf{k}, t) \right|^2. \quad (13.5)$$

Hier bezieht sich D_0 auf die halbe ungestörte Diffusionskonstante eines Proteins. Aus den Formeln wird klar ersichtlich, dass die effektive Diffusion stets niedriger als die ungestörte Diffusion ist.

Für ein Protein erhält man mit der entsprechenden Formel sehr gut den quantitativen Verlauf der Diffusion. Diese sinkt wie erwartet für steigende $m\beta$. Für zwei Proteine zeigt sich eine Abstandsabhängigkeit der Diffusion. Diese ist bei den betrachteten Parametern, innerhalb der Fehlergrenzen der Simulation, nicht unterscheidbar und kann somit in dieser Arbeit vernachlässigt werden. Über den Pfadintegralansatz kann im Sonderfall $m = \kappa$ die Diffusionskonstante, mit sehr guter Übereinstimmung mit den Simulationen, bestimmt werden. Für $m \neq \kappa$ kann keine einfache Lösung für die minimierenden Moden gefunden werden. Daher werden die Simulationen mit der analytischen Einproteindiffusion verglichen. Hier zeigt sich eine systematische Abweichung, hin zu einer schnelleren Diffusion in den Simulationen. Dies liegt an der Verwendung der $\hat{h}(\mathbf{k}, t)$ für ein Protein. Für den

$m\beta$	$C_p\ell = 0.5$		$C_p\ell = 1$	
	1P	2P	1P	2P
5	45785	45682.65	37810	40994
10	44487.5	41367.55	32369	33217
20	38932.5	40590.5	26494	28463
30	37942.5	38207.85	21653.25	26445.5
30	36852.5		20694.5	-

Tabelle 13.1 Diffusionskonstanten für die freie Diffusion für ein und zwei Proteine

$m\beta$	$C_p\ell = 0.5$		$C_p\ell = 1$	
	1P ($\sqrt{2}a_p$)	Paar	1P ($\sqrt{2}a_p$)	Paar
5	21064	21029	15937	15869
10	19428	21140	12700	12793.3
20	18014	17979	10537	9986.7
30	17398	20133	9731	8423.7

Tabelle 13.2 Diffusionskonstanten des Paarschwerpunkts bzw. eines einzelnen Proteins mit entsprechender Fläche

Schwerpunkt können im Sonderfall $m = \kappa$ ebenfalls die Simulationsergebnisse sehr gut bestätigt werden. Die $m\beta$ -Abhängigkeit wird ebenfalls mit der Einproteinformel verglichen. Hier wird jedoch ein Protein mit doppelter Fläche bzw. den Radius $\sqrt{2}a_p$ und der halben ungestörten Diffusionskonstanten betrachtet. Die damit erhaltenen Werte decken sich sehr gut mit den Simulationsergebnissen, stellen jedoch nur eine Abschätzung dar.

Die Diffusion des Proteinpaares legt eine Wechselwirkung zwischen den Proteinen nahe. Für den üblichen Sonderfall und für gleiche Proteine kann über die Änderung der *Freien* Energie das Wechselwirkungspotential

$$\Delta F(d) \simeq -\kappa C_{p,1} C_{p,2} \pi a_p^2 \exp\left\{-\frac{d^2}{2a_p^2}\right\} \quad (13.6)$$

bestimmt werden. Dieses hängt neben dem Radius hauptsächlich von den beiden spontanen Krümmungen der Proteine ab. Hierbei wurden die beiden Fälle, gleiches und unterschiedliches Vorzeichen der Krümmung, untersucht. Es zeigte sich für unterschiedliche Vorzeichen ein repulsives und für gleiche Vorzeichen ein attraktives Verhalten. Aufgrund numerischer Schwierigkeiten wurde nur der Fall gleicher Vorzeichen ausführlich untersucht. In diesem Fall kommt es zu einer Anziehung der Proteine, welche mit steigender Biegesteifigkeit $m\beta$ und $C_p\ell$ stärker wird. Obwohl die Tiefe des Potentials nicht analytisch bestimmbar ist, folgen auch die Potentialverläufe für $m \neq \kappa$ qualitativ der analytischen Kurve. Damit können aus den Simulationen über eine allgemeine Formel für den Potentialverlauf die wichtigen Größen, wie die Potentialtiefe, bestimmt werden. So ist es möglich, auch die Wahrscheinlichkeit für einen bestimmten Abstand formal hinzuschreiben. Weitere analytische Rechnungen sind mit diesem Ausdruck jedoch nicht möglich. Da in der Simulation nicht nur die *Freie* Energie, sondern auch die *Innere* Energie zugänglich ist,

kann auch die Entropieänderung bestimmt werden. Die Entropie ist bei den betrachteten Parametern unabhängig vom Abstand der Proteine und innerhalb der Fehlergrenzen auch eine Konstante im Bezug auf die Biegesteifigkeit der Proteine. Zum Abschluss wird mit Hilfe der Simulationen die Lebensdauer eines Proteinpaare untersucht. Die Lebensdauer steigt, wie man es durch die Potentialverläufe erwartet, mit größeren Proteinsteifigkeiten und größeren Krümmungen von 10^{-4} s auf mehrere Sekunden an.

14 Ausblick

In der Kurzfassung ist bereits eine ausführliche Zusammenfassung der vorliegenden Arbeit präsentiert worden. Aus diesem Grund wird zum Abschluss der Arbeit nur noch ein Ausblick auf weitere Fragestellungen gegeben. Dazu zählt die Erweiterung der Rechnungen auf zunächst drei Proteine. Hier stellt sich die Frage der effektiven Drei-Körper-Wechselwirkungen und deren Abstandsabhängigkeit. Aufgrund dieser Wechselwirkung bzw. des weiteren Proteins werden sich die Höhen-Höhen-Korrelationen und die effektive Diffusion ändern. Anschließend kann das Modell um weitere Proteine erweitert werden. Dabei kann zwischen zwei Situationen unterschieden werden. In einem Fall können alle Proteine frei diffundieren, während im zweiten Fall alle bis auf ein Protein festgehalten werden. Dieses eine Protein bewegt sich nun in einem periodischen Potential. Dies entspricht einer Membran, welche an das darunter liegende Cytoskelett angebunden ist und kann als eine Diffusion mit festen Hindernissen interpretiert werden, bei der eventuell zwei Längenskalen auftreten werden. Diese zwei Längenskalen könnten der Diffusion und dem Abstand der festgehaltenen Proteine entsprechen. Dieser Fall wurde bereits für punktförmige Einschlüsse mit einer festen Schrittweite betrachtet [73]. Für ausgedehnte Proteine und membraninduzierten Wechselwirkungen sind weitere interessante Effekte zu erwarten.

Bezüglich der Paarbindung könnten mehrere unterschiedliche Proteine Einblicke in die Bildung von Rafts geben. Diese Gebilde bestehen aus vielen unterschiedlichen Proteinsorten. Hier könnte die Vermutung bestätigt werden, dass einzelne Proteinsorten nur durch die vermittelnden Wechselwirkungen anderer Proteine solche Rafts bilden können. Zusätzlich könnte der Einfluss unterschiedlicher Proteine auf die Lebensdauer des gesamten Rafts untersucht werden.

Abgesehen von der in dieser Arbeit vorgestellten membraninduzierten Wechselwirkung sind die Einflüsse weiterer Wechselwirkungen zwischen den Proteinen, wie z.B. die hydrophobe Fehlanpassung (Kap. 3), interessant. Diese Wechselwirkung aufgrund der Fehlanpassung ist bereits für statische Membranen und Einschlüsse untersucht worden [45]. Da die in Membranen eingebetteten Proteine meist eine unterschiedliche Dicke als die Membran aufweisen, wäre dies eine sinnvolle Ergänzung des eigenen Modells. Im Zuge dessen kann auch über eine genauere Betrachtung des Proteinrandes und die resultierenden Effekte auf die Membran nachgedacht werden. Des Weiteren können die Proteine aus der Membran herausragen. Hier treten weitere hydrodynamische Wechselwirkungen auf, welche über den *Oseen*-Tensors (Kap. 3.5) auch Auswirkungen auf die Membrandynamik haben können.

Einen weiteren Aspekt stellt die Betrachtung von Membranen mit Ausstülpungen dar. Hierdurch könnte ein tieferes Verständnis für die Proteindiffusion in biologischen Zellen, im speziellen dem Endoplasmatischen Retikulum, gewonnen werden, welche oft blasenartige Ausstülpungen aufweisen. Für die bereits durchgeführten Rechnungen muss dann eine andere Darstellung der Membran gewählt werden, wodurch einzelne Näherungen, welche auf der *Monge*-Darstellung basieren, nicht mehr anwendbar sind.

Teil VI

Anhang

A Rechnungen

A.1 Helfrich-Energie

A.1.1 Helfrich-Energie für eine freie Membran

Die *Helfrich*-Energie (3.19) für eine ungestörte Membran

$$\mathcal{H}_0 = \int_{L^2} d\mathbf{r} \frac{\kappa}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) \right)^2 \quad (\text{A.1})$$

kann leicht durch Einsetzen der *Fourier*-Transformierten von $h(\mathbf{r}, t)$ (3.20) auf *Fourier*-Darstellung gebracht werden. Man erhält

$$\mathcal{H}_0[h(\mathbf{k}, t)] = \frac{\kappa}{2} \frac{1}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t) \int d\mathbf{r} \exp\{i\mathbf{r} \cdot (\mathbf{k} + \mathbf{k}')\}. \quad (\text{A.2})$$

In dieser Gleichung kann die Integration über die Exponentialfunktion als Darstellung der Delta-Funktion

$$\int d\mathbf{r} \exp\{i\mathbf{r} \cdot (\mathbf{k} + \mathbf{k}')\} = L^2 \delta_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} \quad (\text{A.3})$$

aufgefasst werden. Diese Integration kann rasch ausgeführt werden, und es ergibt sich die *Helfrich*-Energie in Moden-Darstellung

$$\mathcal{H}_0[h(\mathbf{k}, t)] = \frac{\kappa}{2} \frac{1}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} k^4 h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t). \quad (\text{A.4})$$

A.1.2 Helfrich-Energie \mathcal{H}_{1T} für ein eingebettetes Protein

Bei der Erklärung des Modellsystems ist die Gleichung

$$\mathcal{H}_1 = \int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r} - \mathbf{R}) \left[\frac{m}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) - C_p \right)^2 - \frac{\kappa}{2} \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) \right)^2 \right] \quad (\text{A.5})$$

$$= \int_{L^2} d\mathbf{r} \frac{1}{2} G(\mathbf{r} - \mathbf{R}) \left[(m - \kappa) \left(\nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) \right)^2 + 2C_p \nabla_{\mathbf{r}}^2 h(\mathbf{r}, t) + C_p^2 \right] \quad (\text{A.6})$$

hergeleitet worden. Um für diese Gleichung eine Darstellung im *Fourier*-Raum zu erhalten, wird, wie im Fall der ungestörten Membran, die *Fourier*-Transformierte von $h(\mathbf{r}, t)$ (3.20)

eingesetzt. Nach Umsortieren der Terme erhält man

$$\begin{aligned}
 \mathcal{H}_1[h(\mathbf{k}, t)] &= \frac{m-\kappa}{2} \frac{1}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r}-\mathbf{R}) \exp\{i\mathbf{r}\cdot(\mathbf{k}+\mathbf{k}')\} \\
 &\quad - mC_p \frac{1}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} k^2 h(\mathbf{k}, t) \int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r}-\mathbf{R}) \exp\{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}\} \\
 &\quad + \frac{mC_p^2}{2} \int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r}-\mathbf{R}). \tag{A.7}
 \end{aligned}$$

Hier tritt keine Darstellung der Delta-Funktion auf, die \mathbf{k} -Vektoren im ersten Term sind miteinander durch eine nichtdiagonale Matrix $K_{\mathbf{k},\mathbf{k}'}$ (5.10) verknüpft. Dies ist für die nachfolgenden Rechnungen entscheidend. Dennoch können die Integrationen über \mathbf{r} ausgeführt werden. Der Übersichtlichkeit wegen werden diese Integrationen hier separat angegeben:

$$\int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r}-\mathbf{R}) = \pi a_p^2 \tag{A.8}$$

$$\int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r}-\mathbf{R}) \exp\{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}\} = \pi a_p^2 \exp\{-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{R}\} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \tag{A.9}$$

$$\int_{L^2} d\mathbf{r} G(\mathbf{r}-\mathbf{R}) \exp\{i\mathbf{r}\cdot(\mathbf{k}+\mathbf{k}')\} = \pi a_p^2 \exp\left\{-i\mathbf{R}\cdot(\mathbf{k}+\mathbf{k}') - \frac{ap^2}{4}(\mathbf{k}+\mathbf{k}')^2\right\}. \tag{A.10}$$

Eingesetzt kann die *Helfrich*-Energie für das Ein-Protein-Problem inklusive des freien Membranterms wie folgt geschrieben werden:

$$\begin{aligned}
 \mathcal{H}_{1T}[h(\mathbf{k}, t)] &= \frac{\kappa}{2} \frac{1}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') L^2 \delta_{\mathbf{k},-\mathbf{k}'} \\
 &\quad + \frac{m-\kappa}{2} \frac{\pi a_p^2}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \times \\
 &\quad \times \exp\{-i\mathbf{R}\cdot(\mathbf{k}+\mathbf{k}')\} \exp\left\{-\frac{a_p^2}{4}(\mathbf{k}+\mathbf{k}')^2\right\} \\
 &\quad - \frac{\pi a_p^2 m C_p}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} k^2 h(\mathbf{k}, t) \exp\{-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{R}\} \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} \\
 &\quad + \frac{\pi a_p^2 m C_p^2}{2}. \tag{A.11}
 \end{aligned}$$

A.1.3 *Helfrich*-Energie \mathcal{H}_{2T} zwei ein eingebettete Proteine

Für zwei eingebettete Proteine kann der Korrekturterm sehr leicht ermittelt werden. Da der Korrekturterm für jedes Protein additiv zur *Helfrich*-Energie ist, kann dieser Term durch Addition von einem weiteren Einteilchenkorrekturterm (5.5) zu \mathcal{H}_{1T} (A.11) berechnet werden. Da sich in dieser Arbeit die Proteine nur durch ihre spontane Krümmung $C_{p,i}$ und den aktuellen Ort \mathbf{R}_i unterscheiden sollen, ergibt sich die *Helfrich*-Energie für zwei Proteine

zu

$$\begin{aligned}
\mathcal{H}_{2T}[h(\mathbf{k}, t)] &= \frac{\kappa}{2} \frac{1}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') L^2 \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}'} \\
&+ \frac{m-\kappa}{2} \frac{\pi a_p^2}{L^4} \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} k^2 k'^2 h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \times \\
&\times \exp\left\{-\frac{a_p^2}{4} (\mathbf{k}+\mathbf{k}')^2\right\} (\exp\{-i\mathbf{R}_1 \cdot (\mathbf{k}+\mathbf{k}')\} + \exp\{-i\mathbf{R}_2 \cdot (\mathbf{k}+\mathbf{k}')\}) \\
&- \frac{\pi a_p^2 m}{L^2} \sum_{\mathbf{k}} k^2 h(\mathbf{k}, t) \exp\left\{-\frac{k^2 a_p^2}{4}\right\} (C_{p,1} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}_1\} + C_{p,2} \exp\{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}_2\}) \\
&+ \frac{\pi a_p^2 m}{2} (C_{p,1}^2 + C_{p,2}^2). \tag{A.12}
\end{aligned}$$

A.2 Nebenrechnung zur Höhen-Höhen-Korrelation

$\langle h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \rangle$

Ausgehend von (7.13)

$$\begin{aligned}
\langle h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \rangle &= \langle h(\mathbf{k}, 0) h(\mathbf{k}', 0) \rangle \exp\{-\gamma(k) t - \gamma(k') t'\} \\
&+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \langle \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', \tau') \rangle \exp\{-\gamma(k) (t-\tau) - \gamma(k') (t'-\tau')\} \\
&+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \langle \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \rangle \exp\{-\gamma(k) (t-\tau) - \gamma(k') (t'-\tau')\} \\
&- \left\langle h(\mathbf{k}', 0) \exp\{-\gamma(k') t'\} \int_0^t d\tau \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \exp\{-\gamma(k) (t-\tau)\} \right\rangle \\
&- \left\langle h(\mathbf{k}, 0) \exp\{-\gamma(k) t\} \int_0^{t'} d\tau' \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \exp\{-\gamma(k') (t'-\tau')\} \right\rangle \\
&- \left\langle \int_0^t d\tau \int_0^{\tau'} d\tau' \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, t) \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \exp\{-\gamma(k') (t'-\tau')\} \exp\{-\gamma(k) t\} \right\rangle \\
&- \left\langle \int_0^t d\tau \int_0^{\tau'} d\tau' \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', t') \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \exp\{-\gamma(k) (t-\tau)\} \exp\{-\gamma(k') t'\} \right\rangle. \quad (\text{A.13})
\end{aligned}$$

wird zunächst festgelegt, dass $t' > t$ gelten soll. Bei den in der Simulation gewählten Parametern ist die Zeitskala der Membran deutlich kleiner als die Zeitskala der Proteinbewegung, wodurch analog einer pre-averaging Näherung zunächst über alle Membrankonfigurationen gemittelt werden kann. Die Mittelwerte für die ausintegrierten Membranfluktuationen $\langle h(\mathbf{k}, t) \rangle$ (7.8) und $\langle h(\mathbf{k}, 0) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle$ (7.9) sind bereits berechnet und können direkt eingesetzt werden. Anschließend wird eine Ensemble-Mittelung durchgeführt. Die Mittelwerte der Stochastischen Kräfte (3.34) sind ebenfalls bekannt. Zusammen erhält man

$$\begin{aligned}
\langle h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \rangle &= \langle h(\mathbf{k}, 0) h(\mathbf{k}', 0) \rangle \exp\{-\gamma(k) t - \gamma(k') t'\} + \\
&+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \langle \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', \tau') \rangle \exp\{-\gamma(k) (t-\tau) - \gamma(k') (t'-\tau')\} + \\
&+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \langle \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \rangle \exp\{-\gamma(k) (t-\tau) - \gamma(k') (t'-\tau')\} - \\
&- \left\langle \frac{\mathbf{c}(\mathbf{k}', 0)}{\gamma(k')} \exp\{-\gamma(k') t'\} \int_0^t d\tau \mathbf{c}(\mathbf{k}, \tau) \exp\{-\gamma(k) (t-\tau)\} \right\rangle - \\
&- \left\langle \frac{\mathbf{c}(\mathbf{k}, 0)}{\gamma(k)} \exp\{-\gamma(k) t\} \int_0^{t'} d\tau' \mathbf{c}(\mathbf{k}', \tau') \exp\{-\gamma(k') (t'-\tau')\} \right\rangle. \quad (\text{A.14})
\end{aligned}$$

In dieser Gleichung muss noch über alle möglichen Membranorte integriert werden. Bevor dies geschieht wird das Quadrat

$$\mathbf{c}(\mathbf{k}, t) \mathbf{c}(-\mathbf{k}', t') = c^2(k) \exp\{-i\mathbf{k} \cdot (\mathbf{R}(t) - \mathbf{R}(t'))\} \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}'} \quad (\text{A.15})$$

der Kraft $\mathbf{c}(\mathbf{k}, t)$ (7.11) für $m = \kappa$ bestimmt. Die hier auftretende Ortsdifferenz kann für die analytischen Berechnungen über die effektive Diffusionskonstante D_{eff} abgeschätzt werden. Dazu wird die Wahrscheinlichkeit

$$\mathcal{P}_D(\mathbf{R}_1, t, \mathbf{R}_2, t') = \frac{\sqrt{4D_{\text{eff}}t}}{\sqrt{\pi}} \exp\left\{-\frac{(\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2)^2}{4D_{\text{eff}}|t - t'|}\right\} \quad (\text{A.16})$$

ein Protein zum Zeitpunkt t am Ort \mathbf{R}_1 zu finden, wenn es zuvor für zur Zeit t' am Ort \mathbf{R}_2 war, verwendet. Daraus ergibt sich

$$\langle \mathbf{c}(\mathbf{k}, t) \mathbf{c}(-\mathbf{k}', t') \rangle = c^2(k) \exp\{-k^2 D |t - t'|\}. \quad (\text{A.17})$$

Dieses Ergebnis wird eingesetzt

$$\begin{aligned} \langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle &= \langle h(\mathbf{k}, 0) h(-\mathbf{k}, 0) \rangle \exp\{-\gamma(k) (t + t')\} + \\ &+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' \langle \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}, \tau) \boldsymbol{\xi}(\mathbf{k}', \tau') \rangle \exp\{-\gamma(k) (t - \tau) - \gamma(k) (t' - \tau')\} + \\ &+ \int_0^t d\tau \int_0^{t'} d\tau' c^2(k) \exp\{-k^2 D |\tau' - \tau|\} \exp\{-\gamma(k) (t - \tau) - \gamma(k) (t' - \tau')\} - \\ &- \frac{1}{\gamma(k)} \exp\{-\gamma(k) t'\} \int_0^t d\tau c^2(k) \exp\{-k^2 D |\tau - 0|\} \exp\{-\gamma(k) (t - \tau)\} - \\ &- \frac{1}{\gamma(k)} \exp\{-\gamma(k) t\} \int_0^{t'} d\tau' c^2(k) \exp\{-k^2 D |\tau' - 0|\} \exp\{-\gamma(k) (t' - \tau')\}, \end{aligned}$$

was gleichzeitig einer Mittelung über alle möglichen Proteinorte entspricht. Anschließend wird die Integrationen über die Zeit ausgeführt

$$\begin{aligned} \langle h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \rangle &= \left(\frac{L^2}{E(k)} + \frac{c^2(k)}{\gamma^2(k)} \right) \exp\{-\gamma(k) (t + t')\} \\ &+ \frac{L^2}{E(k)} \exp\{-\gamma(k) |t - t'|\} \\ &- \frac{c^2(k)}{2(\gamma(k) + Dk^2) \gamma(k)} \exp\{-\gamma(k) (t + t')\} \\ &- \frac{c^2(k)}{2(\gamma(k) - Dk^2) \gamma(k)} \exp\{-\gamma(k) (t + t')\} \\ &- \frac{c^2(k)}{(\gamma(k) - Dk^2) (\gamma(k) + Dk^2)} \exp\{-\gamma(k) (t + t')\} \\ &+ \frac{c^2(k)}{2(\gamma(k) + Dk^2) \gamma(k)} \exp\{-\gamma(k) |t - t'|\} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& -\frac{c^2(k)}{2(\gamma(k) - Dk^2)\gamma(k)} \exp\{-\gamma(k)|t - t'|\} \\
& -\frac{c^2(k)}{(\gamma(k) - Dk^2)(\gamma(k) + Dk^2)} \exp\{-\gamma(k)t' - k^2Dt\} \\
& +\frac{c^2(k)}{(\gamma(k) - Dk^2)(\gamma(k) + Dk^2)} \exp\{-\gamma(k)t - k^2Dt'\} \\
& -\frac{c^2(k)}{(\gamma(k) - Dk^2)(\gamma(k) + Dk^2)} \exp\{-k^2D|t - t'|\}. \quad (\text{A.18})
\end{aligned}$$

Bildet man nun den Grenzübergang $t, t' \rightarrow \infty$, so erhält man

$$\begin{aligned}
\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle &= \left(\frac{L^2}{E(k)} - c^2(k) \frac{k^2 D}{\gamma^3(k) \left(1 + \left(\frac{k^2 D}{\gamma(k)}\right)^2\right)} \right) \exp\{-\gamma(k)|t - t'|\} \\
&+ \frac{c^2(k)}{\gamma^2(k) \left(1 + \left(\frac{Dk^2}{\gamma(k)}\right)^2\right)} \exp\{-k^2 D|t - t'|\}. \quad (\text{A.19})
\end{aligned}$$

Da bereits bei der vorgezogenen Mittelung über alle Membrankonfigurationen vorausgesetzt wird, dass die Zeitskala der Membran sehr viel kleiner als die Zeitskala der Diffusion ist, muss wieder $\gamma(k) \gg k^2 D$ gelten, und die Gleichung vereinfacht sich zu

$$\langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle = \frac{L^2}{E(k)} \exp\{-\gamma(k)|t - t'|\} + \frac{c^2(k)}{\gamma^2(k)} \exp\{-k^2 D|t - t'|\}. \quad (\text{A.20})$$

A.3 Zusätzliche Kraft $\mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t)$ auf das Protein durch die Rückkopplung

Ausgehend von der Definition der Kraft (8.4) kann das Produkt der Kraft mit sich selbst

$$\begin{aligned} \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', t') &= \kappa^2 C_p^2 \pi^2 a_p^4 \frac{1}{L^4} \sum_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} k^2 k'^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{k}' h(\mathbf{k}, t) h(\mathbf{k}', t') \times \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}'} \\ &\quad \times \exp\{-i[\mathbf{R}(t) \cdot \mathbf{k} + \mathbf{R}(t') \cdot \mathbf{k}']\} \exp\left\{-\frac{a_p^2}{4}(k^2 + k'^2)\right\} \end{aligned} \quad (\text{A.21})$$

gebildet werden. Hier ist bereits der Spezialfall $m = \kappa$ vorausgesetzt worden, wodurch auch $\mathbf{k} = -\mathbf{k}'$ gilt. Die Mittelung über alle möglichen Konfigurationen von $h(\mathbf{k}, t)$ kann bei der anstehenden Mittelung vorgezogen werden. Die Zeitskala, auf der die Diffusion abläuft, ist wie in der gesamten Arbeit stets langsamer als die Zeitskala der Membran. Dadurch kann die mittlere Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion (7.15)

$$\begin{aligned} \langle h(\mathbf{k}, t) h(-\mathbf{k}, t') \rangle &= \frac{L^2}{E(k)} \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \exp\{-\gamma |t - t'|\} + \\ &\quad + \frac{\kappa^2 C_p^2 \pi^2 a_p^4 \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\}}{\kappa^2 k^4} \delta_{\mathbf{k}, -\mathbf{k}} \times \\ &\quad \times \langle \exp\{-i\mathbf{k} \cdot (\mathbf{R}(t) - \mathbf{R}(t'))\} \rangle \end{aligned} \quad (\text{A.22})$$

direkt eingesetzt werden. Durch die vereinfachte Beziehung der \mathbf{k} -Vektoren kann eine Summation sofort ausgeführt werden, und man erhält

$$\begin{aligned} \langle \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', t') \rangle &= \sum_{\mathbf{k}} \frac{\kappa^2 C_p^2 \pi^2 a_p^4}{L^2 E(k)} k^6 \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} \times \\ &\quad \times \langle \exp\{-i\mathbf{k} \cdot (\mathbf{R}(t) - \mathbf{R}(t'))\} \rangle \exp\{-\gamma |t - t'|\} \\ &\quad + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\kappa^2 C_p^4 \pi^4 a_p^8}{L^4} k^2 \exp\{-a_p^2 k^2\} \times \\ &\quad \times \langle \exp\{-i\mathbf{k} \cdot (\mathbf{R}(t) - \mathbf{R}(t'))\} \rangle^2. \end{aligned} \quad (\text{A.23})$$

Aus vorherigen Rechnungen ist bereits der Mittelwert für die Exponentialfunktion

$$\langle \exp\{-i\mathbf{k} \cdot (\mathbf{R}(t) - \mathbf{R}(t'))\} \rangle = \exp\{-Dk^2 |t - t'|\}$$

bekannt. Setzt man dieses Ergebnis in die obige Gleichung ein, so ergibt sich für die Kräftekorrelation

$$\begin{aligned} \langle \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}, t) \mathbf{f}_{\text{CC}}(\mathbf{R}', t') \rangle &= \sum_{\mathbf{k}} \frac{\kappa C_p^2 \pi^2 a_p^4}{L^2} k^2 \exp\left\{-\frac{a_p^2 k^2}{2}\right\} \times \\ &\quad \times \exp\{-Dk^2 |t - t'|\} \exp\{-\gamma |t - t'|\} + \\ &\quad + \sum_{\mathbf{k}} \frac{\kappa^2 C_p^4 \pi^4 a_p^8}{L^4} k^2 \exp\{-a_p^2 k^2\} \times \\ &\quad \times \exp\{-2Dk^2 |t - t'|\}. \end{aligned} \quad (\text{A.24})$$

Literaturverzeichnis

- [1] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. *Molekularbiologie der Zelle*. WILEY-VCH Verlag, 4. edition, 2004.
- [2] M. Gradzielski. Self-assembling amphiphilic systems. In *Soft Matter - Complex Materials on Mesoscopic Scales*, volume 10, chapter B8. Forschungszentrum Jülich, 2002. 33. IFF-Ferienkurs 2002, Institut für Festkörperforschung.
- [3] L.D. Frye and M. Edidin. The rapid intermixing of cell surface antigens after formation of mouse-human heterokaryons. *J. Cell Sci.*, 7:319–335, 1970.
- [4] D.M. Engelman. Membranes are more mosaic than fluid. *Nature*, 438:578–580, 2005.
- [5] T. Kohl and P. Schwille. Fluorescence correlation spectroscopy with autofluorescent proteins. *Adv. Biochem. Eng. Biot.*, 95:107–142, 2005.
- [6] J. Lippincott-Schwartz and G.H. Patterson. Development and use of fluorescent protein markers in living cells. *Science*, 300:87–91, 2003.
- [7] M.J. Saxton. Single-particle-tracking: Applications to membrane dynamics. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 26:373–399, 1997.
- [8] P.G. Saffman and M. Delbrück. Brownian-motion in biological-membranes. *PNAS*, 72(8):3111–3113, 1975.
- [9] C.C. Lee and N.O. Petersen. The lateral diffusion of selectively aggregated peptides in giant unilamellar vesicles. *Biophys. J.*, 84(3):1756–1764, 2003.
- [10] R. Peters and R.J. Cherry. Lateral and rotational diffusion of bacteriorhodopsin in lipid bilayers - experimental test of the Saffmann-Delbrück equations. *PNAS*, 79(14):4317–4321, 1982.
- [11] P. Cicuta, S.L. Keller, and S.L. Veatch. Diffusion of liquid domains in lipid bilayer membranes. *J. Phys. Chem. B*, 111(13):3328–3331, 2007.
- [12] Y. Gambin, R. Lopez-Esparza, M. Reffay, E. Sierrecki, N.S. Gov, M. Genest, R.S. Hodges, and W. Urbach. Lateral mobility of proteins in liquid membranes revisited. *PNAS*, 103(7):2098–2102, 2006.
- [13] Y. Lill, K.L. Martinez, M.A. Lill, B.H. Meyer, H. Vogel, and B. Hecht. Kinetics of the initial steps of g protein-coupled receptor-mediated cellular signaling revealed by single-molecule imaging. *Chem. Phys. Chem.*, 6(8):1633–1640, 2005.

- [14] A. Serge, L. Fourgeaud, A. Hemar, and D. Choquet. Receptor activation and homer differentially control the lateral mobility of metabotropic glutamate receptor 5 in the neuronal membrane. *Journal of Neuroscience*, 22(10):3910–3920, 2002.
- [15] N. Kahya, D.A. Wiersma, B. Poolman, and D. Hoekstra. Spatial organization of bacteriorhodopsin in model membranes - light-induced mobility changes. *J. Biol. Chem.*, 277(42):39304–39311, 2002.
- [16] S. Ramadurai, A. Holt, V. Krasnikov, G. van den Bogaart, J.A. Killian, and B. Poolman. Lateral diffusion of membrane proteins. *Journal of the American Chemical Society*, 131(35):12650–12656, 2009.
- [17] H. Muradov, K.K. Boyd, M. Haeri, V. Kerov, B.E. Knox, and N.O. Artemyev. Characterization of human cone phosphodiesterase-6 ectopically expressed in xenopus laevis rods. *J. Biol. Chem.*, 284(47):32662–32669, 2009.
- [18] A. Naji, A.J. Levine, and P.A. Pincus. Corrections of the Saffman-Delbrück mobility for membrane bound proteins. *Biophysical Journal: Biophysical Letters*, 93:L49–L51, 2007.
- [19] F. Campelo, H.T. McMahon, and M.M. Kozlov. The hydrophobic insertion mechanism of membrane curvature generation by proteins. *Biophys. J.*, 95(5):2325–2339, 2008.
- [20] D.E. Chandler, J. Hsin, C.B. Harrison, J. Gumbart, and K. Schulten. Intrinsic curvature properties of photosynthetic proteins in chromatophores. *Biophys. J.*, 95(6):2822–2836, 2008.
- [21] P.D. Blood, R.D. Swenson, and G.A. Voth. Factors influencing local membrane curvature induction by n-bar domains as revealed by molecular dynamics simulations. *Biophys. J.*, 95(4):1866–1876, 2008.
- [22] R. Phillips, T. Ursell, P. Wiggins, and P. Sens. Emerging roles for lipids in shaping membrane-protein function. *Nature*, 459(7245):379–385, 2009.
- [23] R. Beck, Z. Sun, F. Adolf, C. Rutz, J. Bassler, K. Wild, I. Sinning, E. Hurt, B. Bruegger, J. Bethune, and F. Wieland. Membrane curvature induced by arf1-gtp is essential for vesicle formation. *PNAS*, 105(33):11731–11736, 2008.
- [24] B.J. Reynwar, G. Illya, V.A. Harmandaris, M.M. Mueller, K. Kremer, and M. Deserno. Aggregation and vesiculation of membrane proteins by curvature-mediated interactions. *Nature*, 447(7143):461–464, 2007.
- [25] C. Ribault, A. Triller, and K. Sekimoto. Diffusion trajectory of an asymmetric object: Information overlooked by the mean square displacement. *Phys. Rev. E*, 75(2), 2007.
- [26] A. Naji and F.L.H. Brown. Diffusion on ruffled membrane surfaces. *J. Chem. Phys.*, 126(23):235103, 2007.
- [27] B. Spagnolo and A. Dubkov. Diffusion in flashing periodic potentials. *Euro. Phys. J. B*, 50(1-2):299–303, 2006.

-
- [28] J. Pecreaux, H.G. Dobereiner, J. Prost, J.F. Joanny, and P. Bassereau. Refined contour analysis of giant unilamellar vesicles. *Euro. Phys. J. E*, 13(3):277–290, 2004.
- [29] W. Helfrich. Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Naturforscher C*, 28:693, 1973.
- [30] U. Seifert and S.A. Langer. Viscous modes of fluid bilayer-membranes. *Europhys. Lett.*, 23(1):71–76, 1993.
- [31] R. Rodriguez-Garcia, L.R. Arriaga, M. Mell, L.H. Moleiro, I. Lopez-Montero, and F. Monroy. Bimodal spectrum for the curvature fluctuations of bilayer vesicles: Pure bending plus hybrid curvature-dilation modes. *Phys. Rev. Lett.*, 102(12):128101, 2009.
- [32] R.R. Netz. Inclusions in fluctuating membranes: Exact results. *J. Phys. I*, 7(7):833–852, 1997.
- [33] P. Girard, J. Prost, and P. Bassereau. Passive or active fluctuations in membranes containing proteins. *Phys. Rev. Lett.*, 94(8), 2005.
- [34] M.D. Faris, D. Lacoste, J. Pecreaux, J.-F. Joanny, J. Prost, and P. Bassereau. Membrane tension lowering induced by protein activity. *Phys. Rev. Lett.*, 102(3):038102, 2009.
- [35] E. Reister and U. Seifert. Lateral diffusion of a protein on a fluctuating membrane. *Europhys. Lett.*, 71:859–865, 2005.
- [36] S.M. Leitenberger, E. Reister-Gottfried, and U. Seifert. Curvature coupling dependence of membrane protein diffusion coefficient. *Langmuir*, 24(4):1254–1261, 2008.
- [37] R. Shlomovitz and N.S. Gov. Curved inclusions surf membrane waves. *EPL*, 84(5):58008, 2008.
- [38] A. Naji, P.J. Atzberger, and F.L.H. Brown. Hybrid elastic and discrete-particle approach to biomembrane dynamics with application to the mobility of curved integral membrane proteins. *Phys. Rev. Lett.*, 102(13):138102, 2009.
- [39] S. Leibler. Curvature instability in membranes. *Journal de Physique*, 47(3):507–516, 1986.
- [40] F. Divet, T. Biben, I. Cantat, A. Stephanou, B. Fourcade, and C. Misbah. Fluctuations of a membrane interacting with a diffusion field. *Europhys. Lett.*, 60(5):795–801, 2002.
- [41] A.G. Ayuyan and F.S. Cohen. Raft composition at physiological temperature and pH in the absence of detergents. *Biophys. J.*, 94(7):2654–2666, 2008.
- [42] M.C. Rheinstaedter, K. Schmalzl, K. Wood, and D. Strauch. Protein-protein interaction in purple membrane. *Phys. Rev. Lett.*, 103(12):128104, 2009.
- [43] T.R. Weikl. Fluctuation-induced aggregation of rigid membrane inclusions. *Europhys. Lett.*, 54(4):547–553, 2001.

- [44] M. Goulian, R. Bruinsma, and P. Pincus. Long-range forces in heterogeneous fluid membranes. *Europhys. Lett.*, 22(2):145–150, 1993.
- [45] N. Dan, P. Pincus, and S.A. Safran. Membrane-induced interactions between inclusions. *Langmuir*, 9(10):2768–2771, 1993.
- [46] W. Helfrich and T.R. Weikl. Two direct methods to calculate fluctuation forces between rigid objects embedded in fluid membranes. *Euro. Phys. J. E*, 5(4):423–439, 2001.
- [47] Entnommen von physik.uni-muenchen.de.
- [48] F. Schwabl. *Statistische Mechanik*. Springer Verlag, 2. edition, 2004.
- [49] H. Risken. *The Fokker-Planck Equation*. Springer Verlag, 2nd edition, 1989.
- [50] M. Raible and A. Engel. Langevin equation for the rotation of a magnetic particle. *Appl. Organometal. Chem.*, 18(10):536, 2004.
- [51] E. Gorter and F. Grendel. On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of the blood. *J. Exp. Med.*, 41(4):439–443, 1925.
- [52] S.J. Singer and G.L. Nicolson. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175(4023):720–731, 1972.
- [53] Entnommen von http://commons.wikimedia.org/wiki/file:cell_membrane_detailed_diagram_en.svg.
- [54] E.A. Evans and R. Skalak. *Mechanics and Thermodynamics of Biomembranes*. CRC Press Inc., 2 edition, 1980.
- [55] I.N. Bronstein, K.A. Semendjajew, G. Musiol, and H. Mühlig. *Taschenbuch der Mathematik*. Harri Deutsch Verlag, 5 edition, 2001.
- [56] M.P. Do Carmo. *Differential Geometry of Curves and Surfaces*. Prentice-Hall, 1976.
- [57] E. Reister-Gottfried, S.M. Leitenberger, and U. Seifert. Hybrid simulations of lateral diffusion in fluctuation membranes. *Phys. Rev. E*, 75:011908, 2007.
- [58] Entnommen von <http://www.daviddarling.info/encyclopedia/b/bacteriorhodopsin.html>.
- [59] H. Luecke, B. Schobert, H.T. Richter, J.P. Cartailler, and J.K. Lanyi. Structural changes in bacteriorhodopsin during ion transport at 2 angstrom resolution. *Science*, 286(5438):255–260, 1999.
- [60] J. Hsin, J. Gumbart, L.G. Trabuco, E. Villa, P. Qian, C.N. Hunter, and K. Schulten. Protein-induced membrane curvature investigated through molecular dynamics flexible fitting. *Biophys. J.*, 97(1):321–329, 2009.

- [61] P.D. Blood and G.A. Voth. Direct observation of bin/amphiphysin/rvs (bar) domain-induced membrane curvature by means of molecular dynamics simulations. *PNAS*, 103(41):15068–15072, 2006.
- [62] L.C.L. Lin and F.L.H. Brown. Dynamics of pinned membranes with application to protein diffusion on the surface of red blood cells. *Biophys. J.*, 86(2):764–780, 2004.
- [63] L.C.L. Lin and F.L.H. Brown. Brownian dynamics in Fourier space: Membrane simulations over long length and time scales. *Phys. Rev. Lett.*, 93(25), 2004.
- [64] L.C.L. Lin and F.L.H. Brown. Dynamic simulations of membranes with cytoskeletal interactions. *Phys. Rev. E*, 72(1):011910, 2005.
- [65] J.R. Henriksen and J.H. Ipsen. Measurement of membrane elasticity by micro-pipette aspiration. *Eur. Phys. J. E*, 14:149–167, 2004.
- [66] J. Daillant. Structure and fluctuations of a single floating lipid bilayer. *PNAS*, 102(6), 2005.
- [67] E. Reister-Gottfried, S.M. Leitenberger, and U. Seifert. Diffusing proteins on a fluctuating membrane: Analytical theory and simulations. *Phys. Rev. E*, 81(3):031903, 2010.
- [68] K. Mayberg and P. Vachenauer. *Höhere Mathematik 2*, volume 2. Springer Verlag, 4 edition, Juni 2001.
- [69] P.G. Dommersnes and J.B. Fournier. Casimir and mean-field interactions between membrane inclusions subject to external torques. *Europhys. Lett.*, 46(2):256–261, 1999.
- [70] C. Micheletti, G. Bussi, and A. Laio. Optimal Langevin modeling of out-of-equilibrium molecular dynamics simulations. *J. Chem. Phys.*, 129(7):074105, 2008.
- [71] J. Shillcock and U. Seifert. Escape from a metastable well under a time-ramped force. *Phys. Rev. E.*, 57(6):7301–7304, 1998.
- [72] A.I. Shushin. External force affected escape of Brownian particles from a potential well. *J. Phys. Chem. A*, 113(32):9065–9074, 2009.
- [73] T. Auth and N.S. Gov. Diffusion in a fluid membrane with a flexible cortical cytoskeleton. *Biophys. J.*, 96(3):818–830, 2009.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name : Stefan Leitenberger

Geburtsdatum : 03. Januar 1978

Geburtsort : Reutlingen

Werdegang

Sep. 1994 - Jun. 1997 : Ferdinand von Steinbeis Schule, Reutlingen
Technisches Gymnasium

Jul. 1997 - Apr. 1998 : Wehrdienst

Sep. 1998 - Jun. 2001 : Ausbildung zum Mikrotechnologen
Firma Robert Bosch GmbH, Reutlingen

Okt. 2001 - Okt. 2006 : Diplomstudium Physik, Universität Stuttgart

Nov 2006 - : II. Institut für Theoretische Physik
Prof. Dr. U. Seifert
Universität Stuttgart

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Besonderer Dank gilt hierbei

- Frau Dr. Ellen Reister-Gottfried für die hervorragende Betreuung und die unzähligen wissenschaftlichen Diskussionen,
- Herrn Prof. Dr. Udo Seifert für die mir gebotene Möglichkeit eine Dissertation an diesem Institut durchzuführen und die wissenschaftliche Betreuung und Förderung,
- Herrn Prof. Dr. Christian Holm für das Interesse an dieser Arbeit und die Übernahme des Mitberichts,
- Herrn Roman Bedau für die gute Zusammenarbeit bei der Systemadministration und Herrn Boris Lander für die reibungslose Übernahme derselben,
- Herrn Dr. Reimar Finken und Herrn Dr. Tim Schmiedl für ihre Hilfe bei mathematischen Fragen und die vielen Diskussionen zu physikalischen Problemen,
- Frau Anja Steinhauser für ihre Hilfsbereitschaft bei organisatorischen Belangen und die angenehmen Unterhaltungen beim Mittagessen im Kaffeezimmer,
- allen Institutsmitgliedern für die gemeinsame Zeit und die angenehme Atmosphäre.