

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Einführung

Jede Zelle besitzt eine dünne Hülle, die sie gegenüber dem äußeren Medium abgrenzt. Diese sog. „Plasmamembran“ besteht im wesentlichen aus Lipiden¹ und Proteinen [1]. Die Lipide bilden dabei eine fluide zusammenhängende Doppelschicht (Abb.1.1), in der die Proteine z.T. frei diffundieren können [2]. In Tierzellen knüpfen an die Doppelschicht zwei weitere Lagen an. Innen befindet sich ein polymeres Netzwerk, das sog. „Zytoskelett“, welches die Membran versteift, während nach außen Oligosaccharide und Polypeptide reichen (Glycokalix), die für die Zellerkennung verantwortlich sind (Abb.1.1). Die Doppelschicht stellt eine Diffusionsbarriere zwischen dem Inneren und Äußeren der Zelle dar, wobei Ionen und ausgedehnte Moleküle davon deutlich stärker betroffen sind als Wasser [3]. Durch selektive Permeation können in Form eines aktiven Prozesses Stoffe zwischen der Zelle und ihrer Umgebung ausgetauscht werden. An diesem für die Zelle essentiellen Stoffaustausch sind in der Doppelschicht eingelagerte Proteine beteiligt. Im Inneren der Zelle sind funktionelle Einheiten, sog. „Organellen“, von Biomembranen umgeben. Neben ihren strukturbildenden Eigenschaften innerhalb einer Zelle kann die Biomembran auch als Ort angesehen werden, an dem wichtige biochemische Funktionen wie die Photosynthese oder die Proteinsynthese ablaufen [1].

Eine wesentliche Eigenschaft der Lipid-Doppelschicht aller Biomembranen ist ihre *Fluidität* [3]. Die Lipide innerhalb einer Einzelschicht besitzen eine Beweglichkeit, die mit der in einer Flüssigkeit vergleichbar ist. Daher wird eine fluide Membran als eine zweidimensionale Flüssigkeit angesehen. Der Austausch von Lipiden zwischen beiden Einzelschichten („flip-flop“) ist, verglichen mit der lateralen Beweglichkeit, sehr stark eingeschränkt [4]. Biologische Membranen besitzen eine charakteristische Lipidzusammensetzung, die von der Funktion abhängt, welche die Membran innerhalb der Zelle übernimmt. Die Funktionsweise von Proteinen, die in die Lipidmatrix eingelagert sind, kann durch eine veränderte Zusammensetzung der Lipide stark beeinträchtigt werden [5].

Membranen sind Bestandteil einiger flüssigkristalliner Volumenstrukturen, die in Organismen vorkommen. Ein bekanntes Beispiel dafür ist das sog. *Myelin*, welches eine Isolierschicht um die Axone der Nervenzellen bildet. Durch Röntgenbeugung an

¹Der molekulare Aufbau von Lipiden wird später in diesem Kapitel vorgestellt.

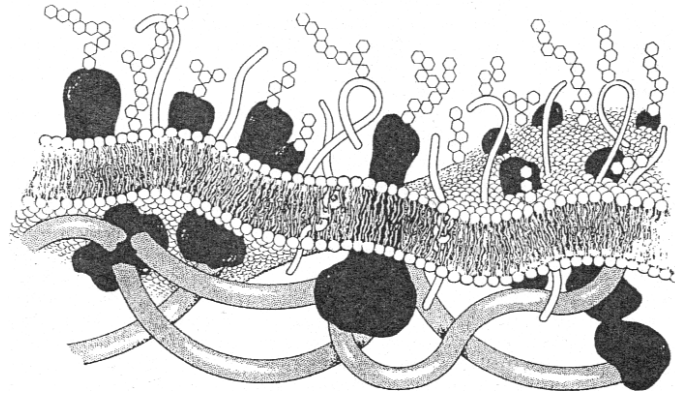


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung einer Plasmamembran (aus [6]): Sie läßt sich in drei Lagen unterteilen. In der Mitte befindet sich die Lipid-Doppelschicht mit Proteinen, oben ist die Glycocalix dargestellt, unten das Zytoskelett.

diesem System wurde herausgefunden, daß das Myelin aus einer regelmäßigen (periodischen) Anordnung von Biomembranen besteht, welche zylinderförmig angeordnet sind [7][8]. Während das System in der Richtung entlang der Schichtnormalen eine Ordnung besitzt, ist die Position der Moleküle innerhalb einer Schicht nicht festgelegt. Die Myelinscheide ist daher ein eindimensionaler Flüssigkristall. Auch kubische Strukturen bestehend aus Membranen wurden in Zellen mit Methoden der Transmissionselektronenmikroskopie (*TEM*) gefunden [9]. Sie kommen in unterschiedlichen Organellen vor, wie dem Endoplasmatischen Reticulum oder dem Mitochondrium.

Zur Untersuchung der physikalischen Eigenschaften von Membranen, wie ihrer Biegesteifigkeit oder Permeabilität, werden sog. „Modellmembranen“ verwendet. Diese enthalten keine Proteine und bestehen in vielen Fällen nur aus einer Sorte von Lipiden. In Wasser zeigen *einkomponentige Lipide* in Abhängigkeit von der Wasserkonzentration und der Temperatur z.T. ein kompliziertes lyotropes bzw. thermotropes Phasenverhalten. Bevor wir näher darauf eingehen, beschreiben wir zunächst den Aufbau von Lipiden und einige ihrer Eigenschaften.

Lipide sind *amphiphile* Moleküle, die im wesentlichen aus einem hydrophilen Kopf und hydrophoben Alkylketten bestehen. Ein mögliches Bindeglied zwischen den Ketten und dem Kopf ist das Glycerin, ein dreiwertiger Alkohol. Die Hydroxylgruppen sind sowohl mit beiden Fettsäuren als auch mit der Kopfgruppe verestert. Häufig an das Glycerin gebundene Kopfgruppen sind Phosphatidylcholin oder Phosphatidylethanolamin (Abb.1.2). Beide besitzen ein permanentes Dipolmoment, welches durch die negative Ladung an der Phosphorgruppe und die positive Ladung an der Stickstoffgruppe zustande kommt. Daher bezeichnet man diese Lipide, deren Nettoladung sich zu Null aufhebt, mitunter auch als „zwitterionische Moleküle“. Phosphoglyceride sind die am häufigsten in Membranen vorkommenden Lipide. Während Phosphatidylcholin (PC) einen größeren Anteil in Tiermembranen bildet, treten Phosphatidylethanolamine (PE) häufiger in Bakterienzellen auf [3]. DGDG findet sich vorwiegend in Chloroplastenmembranen [3]. Abb.1.3 zeigt jeweils ein Beispiel für die in der Arbeit verwendeten Lipidarten (PC, DGDG) in

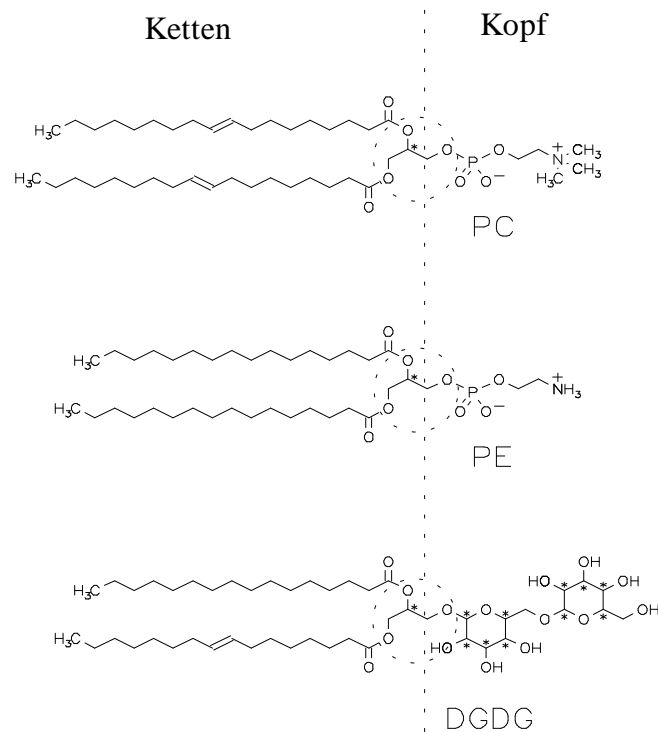


Abbildung 1.2: Strukturformel von drei häufig in Biomembranen vorkommenden Lipidarten. Von den beiden Phosphoglyceriden *Phosphatidylcholin* (PC) und *Phosphatidylethanolamin* (PE) wurde in der Arbeit nur PC verwendet. Auch mit dem vorwiegend auf pflanzliche Zellen beschränkten Glycoglycerid *Digalaktosyl-Diacyl-Glycerol* (DGDG) wurde gearbeitet.

Form eines Kalottenmodells. Der Knick an der rechten Alkylkette des PC-Lipids soll eine Doppelbindung andeuten. Ungesättigte Bindungen bringen Unordnung in den hydrophoben Kettenbereich der Membran und bewirken dadurch, daß die Membran zu tieferen Temperaturen hin fluide bleibt [10][11]. Lipide mit ungesättigten Ketten sind sehr häufig in biologischen Membranen vertreten [3]. Typische Kettenlängen sind 16–20 C-Atome.

Lipide sind als Einzelmoleküle in Wasser sehr schlecht löslich. Aufgrund des sog. „hydrophoben Effektes“ [12] bilden sie schon bei geringen Konzentrationen spontan Aggregate. Bei dieser Selbstorganisation [13] ordnen sich die Lipide in einem polaren Medium (z.B. Wasser) so an, daß die hydrophilen Köpfe in Kontakt mit dem Medium sind und die hydrophoben Ketten davor abschirmen. Kleinste derartige Aggregate stellen *Micellen* dar, die z.B. als Kugeln, Zylinder oder Scheiben vorkommen [10][13][11]. Bei einer größeren Lipidkonzentration bilden Lipide in Wasser lamellare, hexagonale und kubische Mesophasen aus, welche eine langreichweitige Ordnung besitzen [14][15][5][16][17]. Anstatt das lyotrope und thermotrope Phasenverhalten eingehender zu beschreiben, beschränken wir uns im weiteren Verlauf auf eine Einführung bekannter Lipidstrukturen [18]. Der Polymorphismus der Mesophasen wurde im wesentlichen durch Röntgenbeugung untersucht. In Abb.1.4 wird

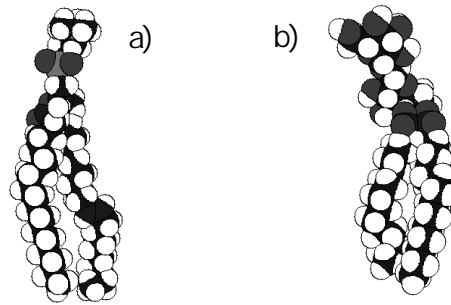


Abbildung 1.3: Beispiele für die in der Arbeit verwendeten Lipidarten in Form eines Kalottenmodells:

a) Phosphatidylcholinglycerid (PC), dessen rechte Alkylkette eine ungesättigte Bindung besitzt.

b) Digalaktosylglycerid (DGDG)

Strukturformeln werden in Abb.1.2 angegeben.

jeweils ein Beispiel vorgestellt.

Die geordnete *lamellare Phase* setzt sich aus einer periodischen Anordnung von Membranen zusammen, welche voneinander durch eine Wasserschicht getrennt sind (Abb.1.4a). Sie ist nicht auf eine planare Geometrie beschränkt. Es sind auch Strukturen bekannt, die idealisiert eine zylindrische oder kugelförmige konzentrische Anordnung der Vielschichten besitzen. Sie werden als *Myelinzylinder* bzw. *multilamellare Liposomen* bezeichnet. Abb.1.4b zeigt eine bikontinuierliche *kubische Phase*. Durch den Membranverlauf, der einer Minimalfläche entspricht, entstehen zwei voneinander getrennte Wasservolumina. Innerhalb der *hexagonalen Phase* bilden Einzelschichten Röhren, die einen Wasserkern besitzen (Abb.1.4c). Als strukturbildende Einheiten eines Großteils fluider Lipidphasen kann eine Einzelschicht angesehen werden, innerhalb derer die Lipide so angeordnet sind, daß die Köpfe und die Ketten jeweils eine zusammenhängende Fläche bilden.

Zusätzlich zu der Anordnung dieser Flächen ist eine Lipidphase durch den Zustand der Ketten vorgegeben. Mit abnehmendem Ordnungsgrad der Ketten wird zwischen einer kristallinen Phase, einer Gel-Phase und einer flüssig kristallinen (fluiden) Phase unterschieden. Der Zustand des Kettengitters kann z.B. durch Röntgenbeugung festgestellt werden. Eine Einführung in die Nomenklatur zur Klassifizierung des Kettengitters wird durch Tardieu et al. gegeben [19]. Während die Struktur der Mesophase durch einen großen lateinischen Buchstaben festgelegt ist (z.B. L: lamellar), repräsentieren kleine griechische Buchstaben den Zustand des Kettengitters (γ : kristallin, β : Gel, α : fluide) [19]. Nach dieser Definition liegen biologische Membranen in der L_α -Phase vor. Die Temperatur des *Hauptübergangs* zwischen der fluiden Phase und der Gelphase hängt u.a. von der Wasserkonzentration, der Kettenlänge und dem Sättigungsgrad der Ketten ab [10].

Für die Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit wurden Lipid/Wasser-Systeme ausgewählt, die bei den gewählten experimentellen Bedingungen in der fluiden (lamellaren) Phase vorliegen (L_α). Als Lipide wurden neutrale Phosphatidylcholinglyceride und Glycoglyceride verwendet (Abb.1.3). Die strukturelle Einheit aller

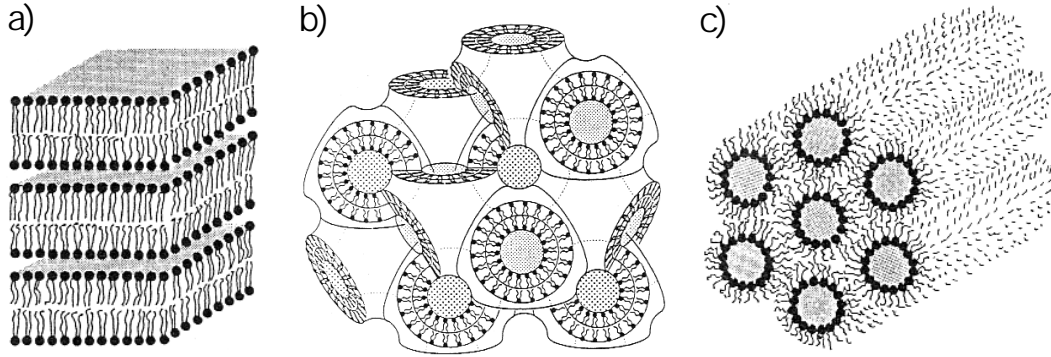


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung typischer Mesophasen des Systems Lipid/Wasser (aus [6]):

- a) Lamellare Phase (*geordnetes Vielschichtsystem*)
- b) Kubische Phase
- c) Hexagonale Phase

von solchen Systemen gebildeten Phasen besteht aus einer *Lipiddoppelschicht*, d.h. Membran (Abb.1.5). Eine Ausnahme stellen Micellen dar, doch sie treten bei viel geringeren als den gewählten Lipidkonzentrationen auf. Neben der geordneten lamellaren Phase (vgl. Abb.1.4a) bilden sich in diesen Systemen in Überschußwasser spontan auch Strukturen aus, die aus einzelnen Membranen bestehen. Ein Beispiel dafür sind *Vesikeln*, bei denen eine Membran ein inneres Volumen vollkommen umschließt und dadurch – einer Plasmamembran vergleichbar – vom äußeren Volumen trennt. Unter welchen Bedingungen und durch welchen Mechanismus sich Membranen von einem geordneten Vielschichtsystem trennen, konnte trotz Anwendung unterschiedlicher experimenteller Methoden bislang noch nicht geklärt werden. Nach der einen Lehrmeinung trennen sich die Membranen beim Angebot von Überschußwasser nicht vom Stapel, sondern nehmen einen einheitlichen durch Röntgenbeugung bestimmbaren „Gleichgewichtsabstand“ ein (z.B. [20][21]). Durch Anwendung der Mikropipettenaspiration wurden außerdem negative Adhäsionsenergien zwischen benachbarten Vesikeln gemessen (s. [22][23]). Andererseits sind die dabei untersuchten Vesikeln jedoch häufig nach einer Methode präpariert, bei der sie sich ausgehend von einem Vielschichtsystem in Überschußwasser spontan bilden [24]. In der Gruppe Helfrich wurde eine Trennung der Membranen im Vielschichtsystem sowohl mit mikroskopischen Methoden [25] als auch mit Röntgenbeugung [26] beobachtet. Einer eingehenden Untersuchung dieses Vorgangs ist ein Teil der vorliegenden Arbeit gewidmet. Den inhaltlichen Aufbau dieses Abschnitts beschreiben wir in Kap.1.2.

Bei vernachlässigbarer lateraler Spannung ist die Krümmung der einzige Beitrag zur elastischen Energie einer fluiden Membran [27]. Die Anwendung des Hookeschen Ansatzes für die Energiedichte

$$g = \frac{1}{2} \kappa (c_1 + c_2)^2 + \bar{\kappa} c_1 c_2, \quad (1.1)$$

mit den Hauptkrümmungen c_1 , c_2 und den Elastizitätsmodulen κ und $\bar{\kappa}$, ist daher zur Deutung einiger Phänomene ausreichend. So konnten mit Hilfe dieses Ansatzes unter

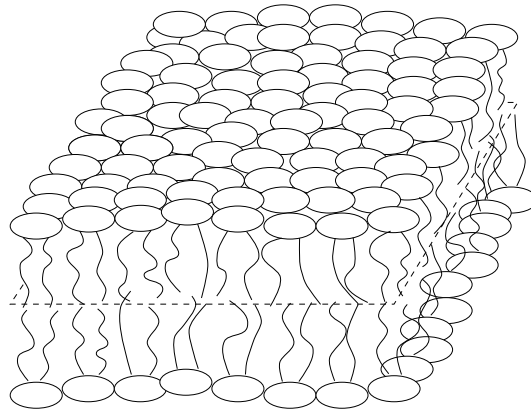


Abbildung 1.5: Schematische Darstellung einer Lipidmembran (aus [28]): Sie setzt sich aus zwei Einzelschichten zusammen, innerhalb derer die hydrophilen Köpfe der Lipide jeweils zum polaren Medium (z.B. Wasser) zeigen. Die hydrophoben Ketten der Lipide befinden sich im Inneren der Membran.

Berücksichtigung der entsprechenden Randbedingungen Formen von Vesikeln und auch Übergänge zwischen verschiedenen Formen im Einklang mit experimentellen Ergebnissen berechnet werden [29][30]. Ein weiterer Erfolg des Hookeschen Ansatzes liegt in der Vorhersage des Modenspektrums thermisch angeregter Undulationen, was experimentell bestätigt ist (s. z.B. [31]).

Der Untersuchung und Deutung außergewöhnlicher Eigenschaften fluider Lipidmembranen wird in der Gruppe Helfrich seit einiger Zeit eine große Aufmerksamkeit zuteil. Durch TEM-Aufnahmen einer Überstruktur auf fluiden einkomponentigen PC-Vesikeln (Abb.1.6b) durch Klösgen et al. [32] konnte direkt nachgewiesen werden, daß fluide Membranen in der L_α -Phase nicht unbedingt planar sind und sich somit wesentlich komplizierter verhalten als erwartet. Als Abweichung von dem näherungsweise ebenen Verlauf (Abb.1.6a) waren zuvor ausschließlich Undulationen [33] bekannt. Dies sind Formfluktuationen einer Membran, deren Amplitude maßgeblich von ihrer Biegesteifigkeit κ abhängt. Bei PC-Membranen beträgt der zusätzliche in den Undulationen gespeicherte Flächenüberschuß im Verhältnis zur Basisfläche nur wenige Prozent [34]. Durch laterale Spannungen werden Undulationen stark unterdrückt [33]. In den TEM-Aufnahmen der DOPC²-Vesikeln ist jedoch erkennbar, daß die Oberflächenstruktur deutlich ausgeprägter ist als die Undulationen (Abb.1.6b). Die Körnung der Oberfläche besitzt eine laterale Ausdehnung oberhalb von $5nm$ [32] und liegt damit in der Größenordnung einer Membrandicke ($4nm$).

Von theoretischer Seite wurden von Helfrich Versuche unternommen, die Ausprägung einer Überstruktur auf einer fluiden Membran durch Anwendung einer krümmungselastischen Theorie zu deuten, die zusätzlich zu den Hookeschen Beiträgen zur Energiedichte in (1.1) höhere Entwicklungen in den Hauptkrümmungen c_1 , c_2 berücksichtigt [35][28][36]. Zur Überprüfung, ob sich durch die Miteinbeziehung höherer Ordnungen eine Überstruktur auf einer ursprünglich ebenen Membran erzeugen läßt, wurden Monte-Carlo-Simulationen durchgeführt. Die Ergebnisse zei-

²Einkomponentiges neutrales PC

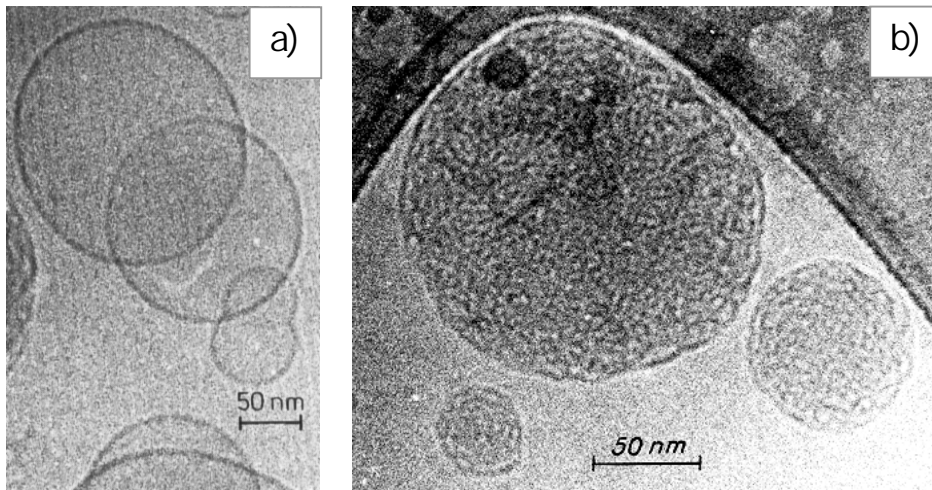


Abbildung 1.6: TEM–Aufnahmen einer Vesikelsuspension (DOPC) in Wasser (aus [32]). Vor dem Einfrieren befinden sich die extrudierten Vesikeln innerhalb einer Wasserlamelle, die eine Kohle–Lochfolie überspannt. Membranverläufe längs der optischen Achse erscheinen als dunkle Linien.

a) Vesikeln mit einem quasiplanaren Membranverlauf.

b) Vesikeln mit einer körnigen Struktur. Diese wird als eine Oberflächenstruktur gedeutet und kurz *Überstruktur* genannt [32]. Ohne *Überstruktur* wären nur die Konturen, d.h. äußeren Umrandungen der Vesikeln sichtbar (a).

gen, daß bei einer geeigneten Auswahl der zusätzlichen Terme eine Oberflächenstruktur entsteht, die vergleichbare Charakteristika aufweist wie die beobachtete Struktur (Abb.3.4) [28]. Eine besondere Bedeutung kommt dabei dem Beitrag des quadratischen Terms in der Gaußschen Krümmung $\bar{\kappa}_2(c_1c_2)^2$ zu, dessen Modul $\bar{\kappa}_2$ als negativ abgeschätzt wurde [35] und somit hohe Krümmungen begünstigt.

Eine ganze Reihe weiterer experimenteller Beobachtungen in der Gruppe Helfrich gab vor der eigentlichen Entdeckung der *Überstruktur* Anlaß zu der Hypothese, daß es einen Mechanismus gibt, der die Ausbildung höherer Krümmungen von PC–Membranen begünstigt. Ein direkter Hinweis ergab sich durch die gelegentliche mikroskopische Beobachtung einer spontanen Entstehung von Membranformen (z.B. Knicke), die nach der Hookeschen Näherung zu ungünstig sind, um thermisch angeregt worden zu sein. Auch die große Streuung der mit unterschiedlichen experimentellen Methoden bestimmten Werte für die Biegesteifigkeit κ (1.1) fluider Membranen wurde in dieser Richtung gedeutet [37]. Eine weitere ungewöhnliche Eigenschaft von PC–Membranen ist die Existenz einer *dispersen Phase*. Diese wurde als erstes im weit gequollenen Vielschichtsystem EYPC/Wasser gefunden [38]. Durch Abkühlen findet induzierte Adhäsion zwischen den Membranen statt und es entstehen Wasserkammern. Darin fallen nach einer Inkubationszeit beim Erwärmen aus der wässrigen Lösung zunächst optisch auflösbare Aggregate aus, die anschließend zu einem *dunklen Körper*³ pro Kammer fusionieren. Beim erneuten Abkühlen gehen die optisch isotropen Objekte wiederum vollständig in eine disperse Phase

³Übersetzung der englischen Bezeichnung „dark body“.

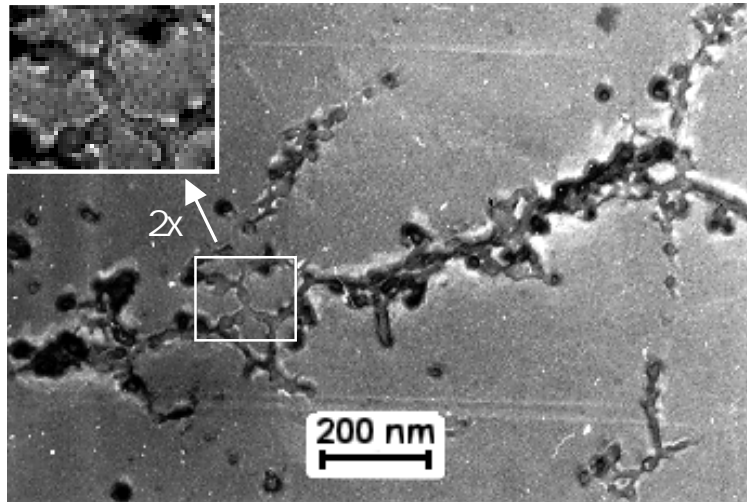


Abbildung 1.7: TEM-Aufnahme einer Lipidstruktur (DMPC), die durch Gefrierätzmethoden präpariert wurde (aus [39]). Solche Strukturen wurden in einem Elektrolyten (10mM NaCl) in Koexistenz mit extrudierten Vesikeln gefunden [40] und werden als disperse Phase interpretiert, die im Zusammenhang mit dem Auflösen optisch isotroper Objekte postuliert wurde [38].

über [38].

Bei TEM-Aufnahmen von Suspensionen extrudierter PC-Vesikeln wurden Lipidaggregate entdeckt, die mit der dispersen Phase in Zusammenhang gebracht werden können (Abb.1.7) [40][39]. Die durch Gefrierätzen hergestellten Replika zeigen lange dünne Membranstrukturen, die verzweigt sind. An einigen Stellen sind Sphäroide erkennbar, die durch Verengungen miteinander verbunden sind.

Die Untersuchung optisch isotroper Objekte wurde im Rahmen dieser Arbeit fortgesetzt. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Entstehung der Objekte, ihrem Temperaturverhalten und ihrer Struktur.

1.2 Aufbau der Arbeit

Die vorliegende experimentelle Arbeit steht in der Tradition von in der Gruppe Helfrich durchgeführten Untersuchungen zum ungewöhnlichen Verhalten fluider neutraler Lipidmembranen in Überschußwasser. Es werden zwei Themenschwerpunkte behandelt. Zum einen geht es um Fragestellungen im Zusammenhang mit dem Quellen und Trennen von Vielschichtsystemen in Überschußwasser. Zum anderen werden optisch isotrope Objekte untersucht, die sich bei geeigneter Probenpräparation im Verlauf des Quellprozesses bilden. Die erzielten Ergebnisse werden vor dem Hintergrund einer Elastizitätstheorie höherer Ordnung diskutiert [36], welche als Modell zur Beschreibung der beobachteten Überstruktur auf Einzelmembranen [32] angewendet wurde [28]. Die aus der erweiterten Elastizitätstheorie im Hinblick auf die Ergebnisse dieser Arbeit gezogenen Schlüsse sind als ein vereinfachender Erklärungsansatz zu verstehen und nicht als vollständiges Modell. Mit der Formulierung eines

vollständigen Modells zur Deutung der beobachteten Phänomene wäre ein Aufwand verbunden, der den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde.

Im Anschluß an die Einleitung werden die in dieser Arbeit angewendeten experimentellen Methoden vorgestellt (Kap.2). An erster Stelle steht eine Beschreibung der Probenpräparation (Kap.2.1). Ihr kommt insofern eine wichtige Bedeutung in der Arbeit zu, als sich Proben je nach der Art der Präparation unterschiedlich entwickeln. Kap.2.1 umfaßt eine Angabe der verwendeten Substanzen (Kap.2.1.1) einschließlich ihrer Herkunft, gefolgt von den Präparationsarten für die Lichtmikroskopie (Kap.2.1.2) und Röntgenbeugung (Kap.2.1.3).

Beide im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Methoden werden in den folgenden Abschnitten im Hinblick auf den konkreten experimentellen Aufbau vorgestellt (Lichtmikroskopie: Kap.2.2, Röntgenbeugung: Kap.2.3). Die optischen Untersuchungen isotroper Objekte wurden hauptsächlich mit einem Phasenkontrastmikroskop durchgeführt und mit Hilfe dieser Methode wurde eine Abschätzung der Lipidkonzentration vorgenommen. Auf das Funktionsprinzip und die Eigenheiten des Phasenkontrastes gehen wir daher in Kap.2.2.1 näher ein. Zur Interpretation der Beugungsspektren werden die Breite der Beugungsreflexe und das Intensitätsverhältnis der Beugungsordnungen zueinander ausgenutzt. Die entsprechenden Grundlagen werden in Kap.2.3.4 vorgestellt. Als mögliche Beiträge zu der Halbwertsbreite werden die instrumentelle Breite (Kap.2.3.4.1), die Ortsverteilung des Streuvolumens (Kap.2.3.4.1), die Größe der Streudomänen (Kap.2.3.4.3) und die Unordnung der Struktur (Kap.2.3.4.4) berücksichtigt.

Das Grundlagenkapitel gliedert sich in drei Abschnitte. Der erste ist der Krümmungselastizität fluider Membranen gewidmet (Kap.3.1). Der Schwerpunkt liegt jedoch weniger auf der Hookeschen Krümmungstheorie (Kap.3.1.1) als auf den Krümmungstermen höherer Ordnung (Kap.3.1.2). Vor allem wird hier erstmalig die Auswirkung der Beiträge höherer Ordnung auf die Fluktuationen einer einzelnen Membran anhand der Parameter abgeschätzt, die bei Monte-Carlo-Simulationen ausgehend von einer ebenen Membran zu einer Überstruktur führen (Kap.3.1.3.3). Dazu wird zuvor ein Modell lokaler Fluktuationsmoden eingeführt (Kap.3.1.3.2) und die Auswirkung lokal hoher Krümmung auf die Biegesteifigkeit einer Membran diskutiert.

Im nächsten Abschnitt (Kap.3.2) geben wir einen Abriß über die in einem Vielschichtsystem zu erwartenden Wechselwirkungen zwischen den Membranen. Es wird zwischen folgenden Wechselwirkungen unterschieden: Van der Waals (Kap.3.2.1), Hydratation (Kap.3.2.2), Elektrostatik (Kap.3.2.3) sowie Undulationen (Kap.3.2.4). Es folgt eine Erläuterung zur komplexen Thematik des Zusammenspiels aller Wechselwirkungen (Kap.3.2.5).

Im letzten Abschnitt (Kap.3.3) geben wir ein einfaches Modell an, nach dem die Hydratisierung eines Vielschichtsystems beschrieben werden kann. Das Permeationsmodell findet bei der Deutung des durch Wasserzugabe eingeleiteten Quellprozesses im Vielschichtsystem in Kap.4.2.2 Anwendung.

Die nächsten beiden Kapitel mit den experimentellen Ergebnissen und entsprechenden Diskussionen stellen den zentralen Teil der Arbeit dar. Das erste Kapitel (Kap.4) befaßt sich mit dem Quellen und Trennen von neutralen PC-Vielschicht-

systemen. Das zweite (Kap.5) beinhaltet Untersuchungen optisch isotroper Objekte im System DGDG/Wasser/NaCl. Eine detaillierte Einführung in die jeweilige Thematik steht am Anfang beider Kapitel.

Das Kap.4 besteht aus drei thematischen Einheiten: In der ersten (Kap.4.2) geht es um den Prozeß der Hydratisierung des Vielschichtsystems durch Zugabe von Wasser, in der folgenden (Kap.4.3) steht die Auflösung des geordneten Vielschichtsystems im Vordergrund, in der letzten, sehr kurzen Einheit (Kap.4.4) werden Messungen vorgestellt, bei denen kein Abbau der Ordnung beobachtet wurde.

Als Methode zur Beobachtung der Hydratisierung von Vielschichtsystemen im Anschluß an die Zugabe von Wasser wird ausschließlich Röntgenbeugung eingesetzt (Kap.4.2.1). Die Ergebnisse werden mit Hilfe des in Kap.3.3 eingeführten Permeationsmodells diskutiert (Kap.4.2.2).

Der Abschnitt zum Trennen von Vielschichtsystemen beginnt mit einer Charakterisierung der verwendeten Proben im Hinblick auf die Orientierung der Schichten, der Verteilung des Streuvolumens (Kap.4.3.1) und der Homogenität der Hydratisierung zu Beginn des Experiments (Kap.4.3.1.3). Anschließend wird der Vorgang des Abbaus der Ordnung näher beschrieben (Kap.4.3.2). Es wird untersucht, ob sich der Prozeß einheitlich innerhalb einer Probe vollzieht (Kap.4.3.3) und wie er von der Temperatur abhängt (Kap.4.3.4). Der folgende Abschnitt (Kap.4.3.5) ist der Veränderung der Halbwertsbreiten der Beugungsordnungen im Verlauf des Quellprozesses gewidmet. Daraufhin werden die Ergebnisse von simultanen Röntgenaufnahmen und optischer Aufnahmen einer Probe geschildert (Kap.4.3.6). Danach werden mikroskopische Beobachtungen höherer Auflösung vorgestellt (Kap.4.3.7). Eine Charakterisierung der neu entstandenen Quellobjekte erfolgt hinsichtlich ihrer Morphologie und Lipidkonzentration (Kap.4.3.8). Die Konzentration wird durch polarisationsmikroskopische Methoden abgeschätzt.

Durchgehende Röntgenmessungen von unterschiedlich präparierten stabilen Proben werden innerhalb des Zeitraums gezeigt, in dem bei den instabilen Proben der Abbau der Ordnung beobachtet wurde (Kap.4.4). Eine Diskussion des möglichen Mechanismus für den Abbau der lamellaren Ordnung schließt das Kapitel ab (Kap.4.4.3). Dabei spielen die Überlegungen zur Undulationswechselwirkung durch höhere Ordnungen in der Biegeelastizität aus Kap.3.1.3.3 eine zentrale Rolle.

Die Untersuchung optisch isotroper Objekte im System DGDG/Wasser/NaCl (Kap.5) erfolgt größtenteils mit lichtmikroskopischen Methoden. Beobachtungen zur spontanen Bildung der Objekte innerhalb und außerhalb des ausgedünnten Vielschichtsystems werden in Kap.5.2.2 beschrieben. Es werden Schlüsse über die Konzentrationsabhängigkeit der Entstehung isotroper Objekte aus einer dispersen Phase gezogen (Kap.5.2.1.1). Temperaturabhängige Phänomene werden in Kap.5.2.2 vorgestellt. Besondere Aufmerksamkeit wird dem Übergang zwischen der durch die isotropen Objekten gebildeten „kondensierten“ und der dispersen Phase zuteil. Im folgenden Abschnitt wird eine Eingrenzung der Lipidkonzentration isotroper Strukturen vorgenommen (Kap.5.2.3). Dies geschieht durch Ausnutzen der Kontrastumkehr, den Objekte oberhalb einer definierten Lipidkonzentration und Größe zeigen. Die Viskosität isotroper Objekte läßt sich durch die optische Beobachtung der Brownschen Bewegung kleiner Sonden abschätzen (Kap.5.2.4).

Mit Hilfe von Röntgenuntersuchungen können diverse gängige Strukturen für die

isotropen Objekte ausgegrenzt werden (Kap.5.3). Auf Eigenheiten der Präparation (Kap.5.3.1) und die Durchführung der Versuche (Kap.5.3.2) gehen wir zu Beginn dieses Abschnitts ein. Zudem werden die Röntgenproben optisch charakterisiert (Kap.5.3.2.1).

Im letzten Abschnitt (Kap.5.3.4) wird ein Strukturmodell für die isotropen Objekte vorgestellt. Diesem liegt die in Kap.3.1.2 eingeführte erweiterte Elastizitätstheorie zugrunde.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse (Kap.6) schließt den inhaltlichen Teil der Arbeit ab.

Als Orientierungshilfe dient eine Auflistung häufig gebrauchter Abkürzungen im Anhang. Zusätzlich ist dort eine Auswahl verwendeter Parameter bzw. Abkürzungen physikalischer Größen tabellarisch zusammengestellt.

