1 Einleitung

Zellen können als miniaturisierte chemische Fabriken angesehen werden, und was sie vollbringen, ist erstaunlich. So verlaufen eine Vielzahl komplexer chemischer Reaktionen, für die in der klassischen Chemie oft aggressive Reagenzien, extreme Bedingungen von Druck und Temperatur oder die Zufuhr elektrischer Energie benötigt werden, in biologischen Systemen mit hohen Ausbeuten unter Normalbedingungen und im wäßrigen Milieu ab. Eine wichtige Rolle bei der Ausübung der Zellfunktionen übernehmen dabei Membranen, die bei allen Zellen zur Abgrenzung zwischen intra- und extrazellulärem Raum und zur Regulierung des Stoffaustausches dienen. Darüber hinaus weisen eukaryotische Zellen eine Kompartimentierung des intrazellulären Raumes auf, durch die membranumschlossene Zellorganellen, wie z.B. die Mitochondrien, das endoplasmatische Reticulum oder der Zellkern entstehen.

Die Zellmembran ist semipermeabel und muß die Aufnahme von Nährstoffen und Salzen sowie die Ausscheidung von Abfallprodukten ermöglichen. Je nach ihrer spezifischen Funktion sind Zellmembranen ganz unterschiedlich aufgebaut; sie werden jedoch in den allermeisten Fällen durch eine Doppelschicht aus Lipiden gebildet, in die Kohlenhydrate, Fettsäuren, Steroide und Proteine eingebettet sind. Durch die Vielzahl an funktionellen Untereinheiten, die in natürlichen Zellmembranen vorliegen, sind physikalisch-chemische Untersuchungen zu Wechselwirkungsbeziehungen einzelner funktioneller Gruppen untereinander oder mit der Lipid-Doppelschicht sehr schwierig zu interpretieren. Man begann daher mit Untersuchungen an einfacher aufgebauten Modellbiomembranen, wie z.B. binären Systemen (Lipid/Wasser). Die Modellsysteme werden dann durch Änderung der Lipidzusammensetzung oder die Integration amphiphiler Moleküle und Proteine immer komplexer und somit biologischen Membranen ähnlicher gestaltet.

Proteine sind nahezu an allen biologischen Funktionen beteiligt; sie dienen als Enzyme zur Katalyse biochemischer Reaktionen, transportieren Moleküle oder Ionen von einem Organ zum anderen – wie z.B. das Hämoglobin oder Lipoproteine – oder sie verleihen biologischen Strukturen Stabilität und Schutz, wie z.B. das Collagen oder Keratin. Zudem können sie den Organismus vor eindringenden Bakterien oder bei Verletzungen vor Blutverlusten schützen (Immunglobuline bzw. Blutgerinnungsproteine wie das Thrombin) und wichtige regulatorische Funktionen übernehmen. So steuert beispielsweise das Insulin den Zuckerstoffwechsel und das Parathormon reguliert den Calcium- und den Phosphattransport. Je nach ihrer Funktion befinden sich Proteine in wäßriger Lösung, wie z.B. im Cytosol oder im Blutplasma, oder sie sind an eine Membran gebunden oder ihr eingelagert.

Eine weitere wichtige Proteinklasse ist die der Ionenkanäle und Ionenpumpen. Sie übertragen nicht nur den Nervenimpuls, indem sie entlang der Nervenfaser das Aktionspotential von etwa -100 mV bis -120 mV ständig wieder aufbauen, sondern übersetzen auch physikalische oder chemische Sinnesreize in neuronale Signale. Selbst Zellen, die nicht an das Nervensystem gekoppelt sind, benutzen sie zu Kommunikationszwecken. Eine „durchschnittliche“ Zelle weist zwischen 10000 und 1000000 Ionenkanäle auf, wobei diese Zahl sich aus bis zu 50 verschiedenen Kanaltypen zusammensetzt.

Ein sehr einfaches Modellsystem für Ionenkanäle stellt Gramicidin dar. Dieses ist ein antibakterielles Polypeptid mit einer Molmasse von 1,8 kDa, das zur Klasse der Ionophore gezählt wird. Es kann in Lipidmembranen eingelagert werden und Kanäle bilden, durch die die Permeabilität für einwertige Ionen, wie Na^+ und K^+, stark erhöht wird. Obwohl Gramicidin aufgrund seiner außergewöhnlichen Struktur und der vergleichsweise geringen Molmasse nicht als Modell für biologische Kanäle, wie den Acetylcholin-Rezeptor, gelten kann, so können doch grundlegende Untersuchungen zu Wechselwirkungsbeziehungen am Modellsystem Lipid/Gramicidin durchgeführt werden, die helfen können, die Funktionen natürlicher Biomembranen zu verstehen.

Im Rahmen dieser Arbeit sind Untersuchungen zum druck- und temperaturabhängigen Phasenverhalten von Phospholipid/Gramicidin D-Mischungen in wäßriger Lösung durchgeführt worden.

Durch die Untersuchung der Lipid-Dispersionen unter der Anwendung hydrostatischen Drucks erhält man die Möglichkeit, den Einfluß von Volumeneffekten auf Lipid-Protein-Wechselwirkungen zu untersuchen, da durch Druckänderungen die Dichte des Systems verändert werden kann, ohne seine thermische Energie zu variieren. Zudem kann innerhalb einer Lipid-Phase die Dicke der Doppelschicht über einen weiten Bereich nahezu stufenlos eingestellt werden; so nimmt die lamellare Gitterkonstante d z.B. in der flüssig-kristallinen Phase in Phospholipid-Doppelschichten um ca. $\mathrm{d}d/\mathrm{d}p = 1$ Å kbar^{-1} ab [Czeslik 1998]. Dies ermöglicht, das Konzept des ‚hydrophobic mismatch‘ [Fattal 1993, Mouritsen 1993] bei der Wechselwirkung von gesättigten Phospholipiden mit Gramicidin einer Überprüfung zu unterziehen und mehr über die Zusammenhänge zwischen der Lipid-Doppelschichtdicke und dem Konformerengleichgewicht des Gramicidins zu erfahren. Des weiteren sind einige der beobachteten Gel-Phasen bei Normaldruck einer Untersuchung nicht, oder zumindest nur schwer zugänglich.

Es werden Kleinwinkel-Röntgenbeugungsexperimente vorgestellt, die zur Bestimmung der druck- und temperaturabhängigen Phasenumwandlungen und der Charakterisierung der verschiedenen Lipid-Phasen dienen. Zudem ergibt sich die Möglichkeit, zu studieren, ob durch den Einbau von Gramicidin Entmischungsphänomene auftreten und durch Bestimmung der lamellaren Gitterkonstanten abzuschätzen, ob die hydrophobe Länge der Lipid-Doppelschicht mit der eines Gramicidin-Konformers korreliert.

^{2}H-NMR-Untersuchungen wurden an kettenperdeuterierten Proben gleicher molarer Zusammensetzung durchgeführt, um Informationen über den Einfluß des Polypeptids auf die Kettendynamik und Konformation der Lipide zu gewinnen. Diese Experimente geben detaillierte Informationen über die lokale Struktur und Dynamik der Methylengruppen entlang der perdeuterierten Acylketten, da die Deuteronen als lokale Kernspinsonden betrachtet werden können. In der fluiden Phase kann aus den Kettenordnungsparametern die hydrophobe Kettenlänge und der mittlere Flächenbedarf der Lipide ermittelt werden. Die spektralen Momente der Spektren ermöglichen eine qualitative Beurteilung der Kettendynamik in allen untersuchten Phasen und eine Untersuchung von Phasenübergängen.