

# Eigenschaften fluider Vesikeln bei endlichen Temperaturen

## Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)  
in der Wissenschaftsdisziplin Theoretische Physik

eingereicht an der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Potsdam

angefertigt am  
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung  
in Golm

von  
Gunnar Torsten Linke  
geboren am 07. August 1975  
in Berlin-Buch

Potsdam, im Mai 2005



# Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Eigenschaften geschlossener fluider Membranen, sogenannter Vesikeln, bei endlichen Temperaturen untersucht. Dies beinhaltet Betrachtungen zur Form freier Vesikeln, eine Untersuchung des Adhäsionsverhaltens von Vesikeln an planaren Substraten sowie eine Untersuchung der Eigenschaften fluider Vesikeln in eingeschränkten Geometrien. Diese Untersuchungen fanden mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen einer triangulierten Vesikeloberfläche statt. Die statistischen Eigenschaften der fluktuierenden fluider Vesikeln wurden zum Teil mittels Freier-Energie-Profile analysiert. In diesem Zusammenhang wurde eine neuartige Histogrammmethode entwickelt.

Die Form für eine freie fluide Vesikel mit frei veränderlichem Volumen, die das Konfigurationsenergie-Funktional minimiert, ist im Falle verschwindender Temperatur eine Kugel. Mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen sowie einem analytisch behandelbaren Modellsystem konnte gezeigt werden, daß sich dieses Ergebnis nicht auf endliche Temperaturen verallgemeinern läßt und statt dessen leicht prolata und oblate Vesikelformen gegenüber der Kugelgestalt überwiegen. Dabei ist die Wahrscheinlichkeit für eine prolata Form ein wenig größer als für eine oblate. Diese spontane Asphärizität ist entropischen Ursprungs und tritt nicht bei zweidimensionalen Vesikeln auf. Durch osmotische Drücke in der Vesikel, die größer sind als in der umgebenden Flüssigkeit, läßt sich die Asphärizität reduzieren oder sogar kompensieren. Die Übergänge zwischen den beobachteten prolata und oblate Formen erfolgen im Bereich von Millisekunden in Abwesenheit osmotisch aktiver Partikel. Bei Vorhandensein derartiger Partikel ergeben sich Übergangszeiten im Bereich von Sekunden.

Im Rahmen der Untersuchung des Adhäsionsverhaltens fluider Vesikeln an planaren, homogenen Substraten konnte mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen festgestellt werden, daß die Eigenschaften der Kontaktfläche der Vesikeln stark davon abhängen, welche Kräfte den Kontakt bewirken. Für eine dominierende attraktive Wechselwirkung zwischen Substrat und Vesikelmembran sowie im Falle eines Massendichteunterschieds der Flüssigkeiten innerhalb und außerhalb der Vesikel, der die Vesikel auf das Substrat sinken läßt, findet man innerhalb der Kontaktfläche eine ortsunabhängige Verteilung des Abstands zwischen Vesikelmembran und Substrat. Drückt die Vesikel ohne Berücksichtigung osmotischer Effekte auf Grund einer Differenz der Massendichten der Membran und der umgebenden Flüssigkeit gegen das Substrat, so erhält man eine Abstandsverteilung zwischen Vesikelmembran und Substrat, die mit dem Abstand vom Rand der Kontaktfläche variiert. Dieser Effekt ist zudem temperaturabhängig.

Ferner wurde die Adhäsion fluider Vesikeln an chemisch strukturierten planaren Substraten untersucht. Durch das Wechselspiel von entropischen Effekten und Konfigurationsenergien entsteht eine komplexe Abhängigkeit der Vesikelform von Biegesteifigkeit, osmotischen Bedingungen und der Geometrie der attraktiven Domänen.

Für die Bestimmung der Biegesteifigkeit der Vesikelmembranen liefern die existierenden Verfahren stark voneinander abweichende Ergebnisse. In der vorliegenden Arbeit konnte mittels Monte-Carlo-Simulationen zur Bestimmung der Biegesteifigkeit anhand des Mikropipettenverfahrens von Evans gezeigt werden, daß dieses Verfahren die *a priori* für die

Simulation vorgegebene Biegesteifigkeit im wesentlichen reproduzieren kann.

Im Hinblick auf medizinisch-pharmazeutische Anwendungen ist der Durchgang fluider Vesikeln durch enge Poren relevant. In Monte-Carlo-Simulationen konnte gezeigt werden, daß ein spontaner Transport der Vesikel durch ein Konzentrationsgefälle osmotisch aktiver Substanzen, das den physiologischen Bedingungen entspricht, induziert werden kann. Es konnten die hierfür notwendigen osmotischen Bedingungen sowie die charakteristischen Zeitskalen abgeschätzt werden. Im realen Experiment sind Eindringzeiten in eine enge Pore im Bereich weniger Minuten zu erwarten. Ferner konnte beobachtet werden, daß bei Vesikeln mit einer homogenen, positiven spontanen Krümmung Deformationen hin zu prolaten Formen leichter erfolgen als bei Vesikeln ohne spontane Krümmung. Mit diesem Effekt ist eine Verringerung der Energiebarriere für das Eindringen in eine Pore verbunden, deren Radius nur wenig kleiner als der Vesikelradius ist.

# Abstract

In this thesis, the properties of closed fluid membranes or vesicles are studied at finite temperatures. The work contains investigations of the shape of free vesicles, studies of the adhesion behavior of vesicles to planar substrates, and investigations of the properties of fluid vesicles in confined geometries. The investigations have been performed with Monte Carlo simulations of triangulated vesicles. The statistical properties of fluctuating vesicles have been analyzed in detail by means of free energy profiles. In this context, a new histogram method was developed.

The shape of minimum configurational energy for a free vesicle without volume constraint at zero temperature is a sphere. It is shown by means of Monte Carlo simulations and a model which can be analyzed analytically, that this result does not apply to finite temperatures. Instead, prolate and oblate shapes prevail and the probability for a prolate shape is slightly larger than that for an oblate shape. This spontaneous asphericity is of entropic origin and cannot be observed in two dimensions. Osmotic pressures inside the vesicle that are larger than in the surrounding liquid may reduce or even compensate the asphericity. The transitions between the observed prolate and oblate states occur on the time scale of milliseconds in the absence of osmotically active particles and on the time scale of seconds in the presence of osmotically active particles.

As far as the adhesion behavior of fluid vesicles to planar homogeneous substrates is concerned, Monte Carlo simulations reveal a strong dependence of the properties of the contact area on its driving force. In the case of a dominating attractive interaction between vesicle membrane and substrate as well as for a mass density difference of the liquids inside and outside the vesicle, which push the vesicle against the substrate, the distribution of the distance between the vesicle membrane and the substrate is homogenous. If the vesicle is pushed against the substrate by a difference of the mass densities of the membrane and the surrounding liquid, neglecting all osmotic effects, one gets a distance distribution between the vesicle membrane and the substrate which varies with the distance from the rim of the contact area. Moreover, this effect is temperature-dependent.

Furthermore, the adhesion of fluid vesicles to chemically structured planar substrates has been studied. The interplay between entropic effects and configurational energies causes a complex dependence of the vesicle shape on the bending rigidity, osmotic conditions, and the geometry of the attractive domains.

There are several experimental methods for measuring the bending rigidity of vesicle membranes which lead to rather different results for the numerical value. Monte Carlo simulations of Evans' micropipette method show that the difference between the measured bending rigidity and the *a priori* chosen bending rigidity is small.

The passage of fluid vesicles through narrow pores has some relevance to medical/pharmaceutical applications. In Monte Carlo simulations it is shown that a spontaneous transport of vesicles can be induced by a concentration gradient of osmotically active particles which corresponds to the physiological conditions. The necessary osmotic conditions and the characteristic time scales are calculated. For real experiments, penetration into the pore should occur within a few minutes. Moreover, it was observed that vesicles with

a homogeneous positive spontaneous curvature can be deformed more easily into prolate shapes than vesicles with zero spontaneous curvature. This effect leads to a decrease of the energy barrier for the penetration into a wide pore, which has a radius slightly smaller than that of the vesicle.

# Liste wichtiger Symbole

$\eta$	dynamische Viskosität der die Vesikel umgebenden Flüssigkeit
$\kappa$	Biegesteifigkeit
$\kappa_{eff}$	effektive Biegesteifigkeit
$\kappa_{sim}$	mikroskopische Biegesteifigkeit in den Simulationen, das heißt in der diskretisierten Canham-Helfrich-Biegeenergie
$\mu$	Massendichte
$\nu$	Viskosität der Vesikelmembran
$\nu_w$	molares Volumen von Wasser
$\xi$	Rauhigkeit eines planaren Membranteils
$\phi^+, \phi^-$	Lipiddichten in den Monoschichten der Vesikelmembran
$\phi_0$	Gleichgewichts-Lipiddichte in der Vesikelmembran
$\rho^+, \rho^-$	lokale skalierte Lipiddichten in den Monoschichten der Vesikelmembran
$\Sigma$	Lagrange-Multiplikator für eine konstante Vesikeloberfläche
$\Sigma_e$	Linienspannung für die Erzeugung eines Membranrandes
$\sigma$	Oberflächenspannung in bezug auf die intrinsische Vesikeloberfläche
$\sigma_{LJ}$	Längeneinheit eines Lennard-Jones-Potentials
$\tau$	Übergangszeit
$\tilde{\psi}$	Fourier-Transformierte der Funktion $\psi$
$A$	intrinsische Oberfläche der Vesikel
$A^*$	Kontaktfläche einer adhärennten Vesikel
$A_p$	projizierte Oberfläche der Vesikel
$A_p^*$	auf das Substrat projizierte Kontaktfläche einer adhärennten Vesikel
$A_0$	Referenzoberfläche
$A_1, A_2$	Vesikeloberflächen innerhalb und außerhalb bzw. auf den zwei Seiten einer Pore
$\mathbf{B}$	Schwerpunkt des Vesikelvolumens
$\mathbf{b}$	Schwerpunkt der Vesikelmembran
$c$	Fourier-Koeffizienten eingeschränkter freier Energien
$c_{sp}$	spezifische spontane Krümmung
$c_{ex}, c_1, c_2$	Konzentration osmotisch aktiver Teilchen außerhalb des Vesikels
$d$	Deformation im dreidimensionalen Raum
$d_2$	Deformation im zweidimensionalen Raum
$E_{el}$	elastischer Anteil der Konfigurationsenergie
$E_{gravi}$	Beitrag zur Konfigurationsenergie durch ein homogenes Schwerfeld
$E_{osm}$	osmotischer Anteil der Konfigurationsenergie
$E_{sc}$	Beitrag zur Konfigurationsenergie durch eine zweite Komponente in der Membran
$E_{substrate}$	Beitrag zur Konfigurationsenergie durch Wechselwirkung mit einem attraktiven Substrat

$e_1, e_2, e_3$	Eigenwerte des Trägheitstensors $\mathcal{I}$ des Vesikelinneren
$F$	freie Energie
$F(s)$	eingeschränkte freie Energie mit Parameter(n) $s$
$f(s)$	verallgemeinerte Kraft, die sich aus der eingeschränkten freien Energie $F(s)$ ergibt
$f_{est}(s)$	geschätzte verallgemeinerte Kraft
$F_{el}$	elastische freie Energie
$G$	Gaußsche Krümmung
$g$	Determinante des Metriktensors
$\bar{g}$	Feldstärke des homogenen Schwerfeldes
$h_i$	Anzahl der Histogrammeinträge im Histogrammkasten $i$
$\mathcal{I}$	Trägheitstensor des Vesikelvolumens
$k$	Flächenkompressionsmodul
$\mathbf{k}$	Vektoren des reziproken Gitters
$L_0$	mittlere Kantenlänge im <i>Tethered Beads</i> Modell
$L$	Meniskuslänge einer in eine Mikropipette eingesaugten Vesikel
$L_\gamma$	Breite eines attraktiven Streifens auf einem planaren Substrat
$M$	mittlere Krümmung
$M_{sp}$	spontane Krümmung
$\mathbf{n}$	Normaleneinheitsvektor auf die Vesikeloberfläche
$N$	Anzahl der osmotisch aktiven Teilchen im Vesikelvolumen
$N_{bins}$	Anzahl von Histogrammkästen
$N_{sc}$	Gesamtstoffmenge der zweiten Komponente in der Vesikelmembran
$N^+, N^-$	Anzahlen von Lipidmolekülen in den Monoschichten der Vesikelmembran
$N_e$	Anzahl der Vertices in der Triangulierung
$N_f$	Anzahl der Dreiecke in der Triangulierung
$N_k$	Anzahl der Kanten in der Triangulierung
$n_{sample}$	Stichprobengröße im Zusammenhang mit Histogrammmethoden
$n_{sc}$	Flächendichte einer zweiten Komponente in der Vesikelmembran
$\bar{n}_{sc}$	mittlere Flächendichte der zweiten Membrankomponente
$P$	Druck
$P_0 = T R_0^{-3}$	Referenzdruck
$P_{osm}$	osmotischer Druck
$P_{mem}$	Permeabilität der Vesikelmembran
$P_f$	scheinbare Permeabilität
$p, q$	Wahrscheinlichkeitsdichten
$p_0$	Normierungskonstante einer Wahrscheinlichkeitsdichte
$R$	$R = 8.314 \text{ J m}^{-3} \text{ K}^{-1}$ ist die universelle Gaskonstante.
$R^*$	Kontaktradius
$R_\gamma$	Radius eines attraktiven Kreises auf einem planaren Substrat
$R_{A^*}$	Radius der Kontaktfläche einer adhärennten Vesikel
$R_0$	Radius der freien Vesikel
$R_p$	Pipettenradius, Porenradius
$R_w$	Krümmungsradius in einer Pore
$\mathbf{r}$	Ortsvektoren
$\hat{\mathbf{r}}$	Ortsvektoren relativ zum Schwerpunkt des Vesikelvolumens
$T$	Temperatur (Die Boltzmann-Konstante $k_B$ ist auf Eins gesetzt); wenn nicht anders festgelegt, ist $T = 1$ .
$t$	Zeit
$t_{trans}$	Dauer des Eindringprozesses einer fluiden Vesikel in eine enge Pore



$\mathbf{U}$	Einheitenmatrix
$u_{\ell,m}$	Entwicklungskoeffizienten bei der Darstellung der Vesikelform mit Hilfe der komplexwertigen Kugelflächenfunktionen
$V$	Vesikelvolumen
$V_0 = \frac{4\pi}{3}R_0^3$	Referenzvolumen
$V_{osm}$	Vesikelvolumen mit verschwindendem osmotischen Druck
$V_1, V_2$	Vesikelvolumina innerhalb und außerhalb bzw. auf den zwei Seiten einer Pore
$v = 6\sqrt{\pi}VA^{-3/2}$	reduziertes Vesikelvolumen
$W$	Potential eines attraktiven Substrats
$W_0$	Tiefe eines Kontaktpotentials pro Einheitsfläche
$W_{LJ}$	Potentialtiefe eines 9-3-Lennard-Jones-Potentials pro Einheitsfläche
$w = WR_0^2/\kappa$	reduzierte Potentialtiefe
$Z$	Zustandssumme
$Z(s)$	Eingeschränkte Zustandssumme mit Parameter(n) $s$
$z$	im Falle des Vorhandenseins eines Substrates Koordinate senkrecht zum Substrat (Substrat bei $z \leq 0$ )



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Konfigurationsenergie fluider Vesikeln</b>	<b>5</b>
2.1	Membranmodelle für fluide Vesikeln . . . . .	5
2.2	Adhäsion . . . . .	7
2.3	Gravitation . . . . .	8
2.4	Zweikomponentige Vesikeln . . . . .	9
2.5	Längenabhängige Materialparameter . . . . .	9
2.6	Bestimmung der Materialparameter . . . . .	10
<b>3</b>	<b>Monte-Carlo-Simulationen für fluide Vesikeln</b>	<b>11</b>
3.1	Triangulierung von Vesikeloberflächen . . . . .	11
3.2	Monte-Carlo-Schritte . . . . .	13
3.3	Berechnung charakteristischer Größen . . . . .	15
3.4	Geometrische Nebenbedingungen . . . . .	15
3.5	Erzeugung der Startkonfigurationen . . . . .	16
<b>4</b>	<b>Berechnung freier Energien</b>	<b>17</b>
4.1	Freie Energie als Funktion äußerer Parameter . . . . .	17
4.2	Thermodynamische Integration . . . . .	17
4.3	<i>Importance</i> und <i>Umbrella Sampling</i> . . . . .	18
4.4	Bekannte Histogrammethode . . . . .	18
4.5	In dieser Arbeit neuentwickelte Histogrammethode . . . . .	19
<b>5</b>	<b>Asphärizität fluider Vesikeln</b>	<b>23</b>
5.1	Definition der Asphärizität . . . . .	23
5.2	Realisierung als Computer-Experiment . . . . .	24
5.3	Simulationsergebnisse . . . . .	24
5.4	Ein Minimalmodell für drei Dimensionen . . . . .	27
5.5	Vergleich mit einem Minimalmodell für zwei Dimensionen . . . . .	29
5.6	Approximation der Vesikeloberfläche durch ein Ellipsoid . . . . .	31
5.7	Der Übergang zwischen prolaten und oblaten Formen . . . . .	33
5.8	Zusammenfassung . . . . .	37
<b>6</b>	<b>Vesikeln an attraktiven Substraten</b>	<b>39</b>
6.1	Einleitung . . . . .	39
6.2	Abziehen einer Vesikel von einem Substrat . . . . .	39
6.3	Kontaktzonen von Vesikeln . . . . .	44
6.4	Vesikeln auf strukturierten Substraten . . . . .	52

6.5	Oberflächenspannung . . . . .	66
6.6	Bemerkungen zum Fall sehr kleiner Biegesteifigkeiten . . . . .	69
<b>7</b>	<b>Vesikeln in eingeschränkten Geometrien</b>	<b>70</b>
7.1	In Mikropipetten eingesaugte Vesikeln . . . . .	70
7.2	Durchgang von Vesikeln durch enge Poren . . . . .	80
7.3	Durchgang von Vesikeln durch große Poren . . . . .	94
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>101</b>
<b>A</b>	<b>Mittlere Tetherlänge</b>	<b>104</b>
<b>B</b>	<b>Konvergenz des Schätzers für generalisierte Kräfte</b>	<b>105</b>
<b>C</b>	<b>Asphärizität im 3D <i>Crossed Dumbbells</i> Modell</b>	<b>106</b>
<b>D</b>	<b>Asphärizität ellipsoidaler Vesikelformen</b>	<b>108</b>
<b>E</b>	<b>Approximation der Vesikelform durch ein Rotationsellipsoid</b>	<b>111</b>
<b>F</b>	<b>Entwicklungskoeffizient <math>u_{2,0}</math> für die Vesikelform</b>	<b>112</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>114</b>

# Kapitel 1

## Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den Eigenschaften geschlossener fluider Membranen, sogenannten Vesikeln, bei endlichen Temperaturen. Diese werden hier mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen untersucht.

Geschlossene fluide Membranen sind ein wesentlicher Bestandteil lebender Systeme, denn sämtliche Zellen und Zellorganellen sind von Lipidmembranen umgeben [1]. Entscheidenden Einfluß auf den Zellstoffwechsel haben dabei insbesondere Adhäsionseigenschaften sowie Öffnungs- und Fusionsprozesse. Diese bestimmen den Zusammenhalt von Zellen innerhalb eines Gewebes, die Aufnahme von Fremdkörpern aus dem Blut durch Leukozyten, den Transport von Stoffen in einer Zelle durch Vesikeln. Dabei zeigt sich, daß diese Prozesse nicht rein statistischer Natur sind, sondern komplexe aktive Netzwerke beinhalten. Viele Mechanismen lassen sich jedoch bereits durch die statistisch-mechanischen Eigenschaften der Lipidmembran erklären [2]. Eine Übersicht über diese Eigenschaften ist zum Beispiel von Lipowsky in [3] gegeben. Neben Lipiden enthalten diese biologischen Membranen viele weitere Komponenten, die untereinander wie auch interzellulär wirken. Die Beschreibung dieser Prozesse erweist sich jedoch als äußerst komplex [4, 5]. Fluide Vesikeln, in die gegebenenfalls weitere Komponenten eingebracht werden, können als stark vereinfachtes Modellsystem für die Adhäsion einzelner Zellen an Substraten dienen [6]. Derartige Prozesse sind insbesondere bei der künstlichen Reproduktion von Geweben<sup>1</sup> von Interesse [7].

### Weitere Anwendungen von Vesikeln

Außer dieser biologisch-medizinischen gibt es Anwendungen für Vesikeln in vielen weiteren Bereichen. Neben der Verwendung als Container für Medikamente für (trans-)dermale und intravenöse Verabreichung, auf die detaillierter in den Abschnitten 7.2 und 7.3 eingegangen wird, und im speziellen als nichtvirale Container bei der Gentherapie [8] sind sie auch im Bereich der Mikrotechnologie von Interesse.

Nikolelis et al. verwenden Vesikeln als Biosensoren [9] und Fromherz et al. als Membrantransistoren [10].

Die geringe Größe von Vesikeln und das daraus resultierende Volumen von einigen Femtolitern steht bei der Untersuchung schneller chemischer Reaktionen [11] im Vordergrund. Es tritt schnelle diffusionsbedingte Durchmischung nach Fusion zweier Vesikeln auf. Der Reaktionsverlauf der Substanzen in den Vesikeln kann durch Verwendung fluoreszierender Farbstoffe sichtbar gemacht werden.

Neuerdings können auch komplexe Netzwerke aus Vesikeln und diese untereinander verbindende Nanoröhren [12, 13, 14, 15, 16, 17, 18] (Vesikelgröße  $\sim 10 \mu\text{m}$ ) konstruiert

---

<sup>1</sup>engl.: *tissue engineering*

und die beinhalteten Nanoröhren verknotet werden [18].

Eine Verwendung in der Biomedizin wird schließlich von Walde et al. [19, 20] vorgeschlagen. Enzyme können mit Vesikeln eingekapselt werden und sollen so als Katalysatoren in Zellen arbeiten.

## Herstellung

Zur Herstellung von sphärischen Vesikeln gibt es eine Vielzahl klassischer Verfahren. Vesikeln lassen sich zum Beispiel durch Einwirken von Ultraschall auf Dispersionen von Fettsäuren [21, 22] erzeugen. Eine weitere Möglichkeit besteht im Eindampfen von Lösungen amphiphiler Moleküle in Chloroform oder anderen leichtflüchtigen Lösungsmitteln, wobei dünne Filme entstehen, die bei Aufquellen in Wasser Vesikeln bilden [23, 24]. Dieses Verhalten wird durch das Anlegen elektrischer Felder [25] begünstigt. Weitere Herstellungsmöglichkeiten bestehen in der Scherung ursprünglich lamellarer Phasen [26, 27] und der Extrusion durch enge Poren [28, 29, 30, 31].

Die so hergestellten Vesikeln können aus einer oder vielfach auch aus mehreren Lipiddoppelschichten bestehen, die hinsichtlich ihrer Zusammensetzung meist symmetrisch sind. Zur Herstellung asymmetrischer Vesikeln schlagen etwa Pautot et al. [32] vor, inverse Mizellen aus Amphiphilen der Sorte 1 (wäßrige Phase innen) durch eine Grenzschicht aus Amphiphilen der Sorte 2 in eine wäßrige Lösung zu ziehen. Dieses Verfahren ergibt asymmetrische Vesikel mit amphiphilen Molekülen der Sorte 1 auf der Innenseite und der Sorte 2 auf der Außenseite. In Drei-Komponenten-Systemen läßt sich zudem eine spontane Bildung von Vesikeln beobachten [33, 34, 35]. Bereits durch Veränderung der Temperatur oder der osmotischen Bedingungen läßt sich eine große Vielfalt an Vesikelformen erzeugen [36, 37, 38, 39, 40]. Ferner lassen sich auch toroidale Vesikeln herstellen [41, 42, 43, 44], die für ein Genus größer oder gleich zwei die von Jülicher et al. [45] vorhergesagte konformale Degenerierung des Zustands minimaler Konfigurationsenergie sowie eine entsprechende konformale Diffusion zeigen.

Neben der Verwendung von Phospholipiden als Hauptbestandteil können fluide Vesikeln zum Beispiel aus Block-Copolymeren erzeugt werden [46, 47, 48, 49, 50, 51]. Entsprechend ihrer Hauptkomponente werden Vesikeln auch als Liposome, Polymersome usw. bezeichnet.

Die mit den obengenannten Methoden hergestellten Vesikeln haben Durchmesser zwischen 50 nm und 50  $\mu\text{m}$ . Eine Lipiddoppelschicht hat eine Dicke von ca. 4 nm.

## Allgemeine optische Beobachtungsmöglichkeiten

Die optische Beobachtung von Vesikeln ist durch deren Größe eingeschränkt. Mit Lichtmikroskopie können lediglich Objekte mit einem Abstand größer als die halbe Wellenlänge räumlich voneinander unterschieden werden. Das Auflösungsvermögen ist also auf ca. 170 nm beschränkt. Mit konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie [52] lassen sich sogar *in vivo* Aufnahmen erzeugen. Diese Möglichkeit existiert für kleine Objekte, bei denen man auf Elektronenmikroskopie angewiesen ist, nicht mehr. Hier besteht vielmehr die Gefahr, durch das nötige Einfrieren bei tiefen Temperaturen im Rahmen der Probenvorbereitung systematische Fehler zu verursachen.

Hinsichtlich Lichtmikroskopie ist abschließend zu bemerken, daß Vesikeln in der Regel nur wenig Licht absorbieren. Man nutzt daher die unterschiedlichen Brechungsindizes der Membran und der umgebenden Flüssigkeit zur Erzeugung von Abbildungen nach Zernikes Phasenkontrastverfahren [53]. Der Kontrast läßt sich auch durch unterschiedliche Lösungen in und außerhalb der Vesikel verstärken. Bei Verwendung fluoreszenter Membranbestandteile besteht das obengenannte Problem nicht.

## Membranmodelle

Ausgehend von Symmetriebetrachtungen und der Tatsache, daß der Schermodul für Flüssigkeiten verschwindet, leiteten Canham [54] und Helfrich [55] einen Ausdruck für die in einer fluiden Membran gespeicherte elastische Energie her. Hierbei wird die mikroskopische Struktur der Membran außer Acht gelassen, so daß dieses Modell nur Strukturen auf Längenskalen beschreiben kann, die größer sind als die Abmessungen der molekularen Bestandteile der Membran.

Die mit dem Canham-Helfrich-Modell beschriebenen elastischen Energien erweisen sich als erheblich kleiner als charakteristische Energien für eine Dehnung bzw. Kompression der Membran. Für Vesikeln sind diese Beiträge zudem wesentlich kleiner als Beiträge zur Konfigurationsenergie des Systems auf Grund unterschiedlicher osmotischer Drücke innerhalb und außerhalb der Vesikel. Bei der Modellierung fluiden Vesikeln wird daher eine konstante Oberfläche angenommen und in vielen Fällen ein konstantes Volumen. Eine Minimierung der Konfigurationsenergie von Vesikeln in diesem einfachen Modell, dem *Spontaneous Curvature* Modell, liefert bereits eine große Vielfalt an Vesikelformen [36].

Auf Grund der Tatsache, daß der Teilchenaustausch zwischen den Monoschichten einer Lipiddoppelschicht auf der Zeitskala von Stunden stattfindet, wenn die Vesikel aus Phospholipiden besteht [56], hat eine Asymmetrie der Lipiddoppelschicht wesentlichen Einfluß auf die Eigenschaften der Vesikel. Eine Berücksichtigung der Differenz der Flächeninhalte der Monoschichten führt auf das *Bilayer Couple* Modell [57, 58, 59] bzw. auf das *Area Difference Elasticity* Modell [60, 61, 62, 63].

Phasendiagramme für stationäre Formen fluiden Vesikeln, die mit diesen Modellen beschrieben werden, finden sich in [64, 63, 65].

## Simulationen von Membranen und Vesikeln

Für Simulationen von Membranen ist eine Diskretisierung der Membranfläche und der Konfigurationsenergie notwendig. Bei im Mittel planaren Membranen geschieht dies durch Festlegung eines endlichen orthogonalen Gitters auf einer Ebene, die parallel zur mittleren Form der Membran ist, und durch Angabe der Abstände zwischen der Membran und dieser Ebene an den Gitterpunkten. Die Membran wird an den Gittergrenzen periodisch fortgesetzt. Entsprechende Monte-Carlo-Simulationen zur Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Membranen und Substraten sowie zwischen mehreren Membranen wurden in [66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73] durchgeführt.

Eine elegante Diskretisierung geschlossener, sich selbst vermeidender Oberflächen ist durch das *Tethered-Beads* Modell von Kantor et al. [74, 75, 76] gegeben. Auf dieser Basis wurden von Leibler et al. [77] erste Untersuchungen der Eigenschaften von Vesikeln in zwei Dimensionen bei endlichen Temperaturen durchgeführt. Die Fluidität einer zweidimensionalen Vesikelmembran im dreidimensionalen Raum wird durch Änderung der lokalen Konnektivität erreicht [78, 79, 80]. Probleme, die bei der Diskretisierung der Biegeenergie gekrümmter fluiden Membranen entstehen, wurden von Gompper und Kroll diskutiert [81]. Eine Untersuchung mit Hilfe des *Tethered-Beads* Modells triangulierter Vesikeln in Verbindung mit physikalischen Membranmodellen erfolgte in [80, 82, 83, 81]. Membranen fluktuierender Topologie wurden ebenfalls von Gompper und Kroll [84] untersucht.

## Überblick über die vorliegende Arbeit

In der vorliegenden Arbeit werden grundlegende Eigenschaften freier und adhärerter Vesikeln bei endlichen Temperaturen mit Hilfe von Simulationen diskutiert.

Nach einer Zusammenfassung der wichtigsten Membranmodelle in Kapitel 2 werden entsprechende Simulationsmethoden in Kapitel 3 besprochen. Es folgen Überlegungen zur Ermittlung freier Energien (Kapitel 4), die nachfolgend zur Berechnung von Asymmetrie- und Adhäsionseigenschaften Anwendung finden. In Kapitel 7 werden mit Hilfe dieser Methoden die Eigenschaften von Vesikeln in eingeschränkten Geometrien untersucht und dabei speziell der für pharmazeutische Anwendungen relevante Fall zylindrischer Poren mit rundem Querschnitt betrachtet.

Für einige Fachausdrücke existiert auf Grund des Vorherrschens der englischen Sprache in Fachzeitschriften bisher nur eine englische Version. Um ungewöhnliche Übersetzungen ins Deutsche zu vermeiden, habe ich diese englischen Fachausdrücke in Kursivschrift an den betreffenden Stellen verwendet.



## Kapitel 2

# Konfigurationsenergie fluidier Vesikeln

Durch Integration über die atomaren Koordinaten der Membranlipide, der umgebenden Wassermoleküle und osmotisch aktiven Teilchen lassen sich Freie-Energie-Ausdrücke als Funktion der Vesikeloberflächen-Konformation aufstellen. Die betrachteten Vesikeln sind dabei so groß, daß sich eine lokale Freie-Energie-Dichte (siehe Gleichung (2.1)) einführen läßt. Die Monte-Carlo-Simulationen basieren auf einem Modell, in dem diese Energieterme das statistische Gewicht für die Membrankonfiguration bestimmen.

### 2.1 Membranmodelle für fluide Vesikeln

Die Biegeenergie einer fluiden Membran ist in ihrer einfachsten Form durch

$$E_{el} = \frac{\kappa}{2} \oint (2M - M_{sp})^2 dA + \bar{\kappa} \oint G dA \quad (2.1)$$

gegeben [54, 55], wobei  $M$  die mittlere Krümmung,  $M_{sp}$  die spontane Krümmung,  $G$  die Gaußsche Krümmung,  $\kappa$  die Biegesteifigkeit und  $\bar{\kappa}$  die Gaußsche Biegesteifigkeit sind. Auf Grund des Gauß-Bonnet-Theorems ist das Integral der Gaußschen Krümmung eine topologische Invariante für geschlossene Flächen [85]. Da nur Vesikeln unveränderlicher Topologie und konstanter Gaußscher Biegesteifigkeit betrachtet werden sollen, ist dieses Integral konstant und kann im folgenden weggelassen werde. Die Fluidität der Membran spiegelt sich in Gleichung (2.1) in der Tatsache wider, daß die lokalen Beiträge invariant unter Umparametrisierung der Fläche sind und keine Terme auftreten, die eine Scherung der Membran berücksichtigen würden.

Ein zusätzlicher Beitrag zur elastischen Energie wird durch Dichtefluktuationen innerhalb der Membran bewirkt [55]. Seien  $\phi^+$  und  $\phi^-$  die Lipidmoleküldichte in den einzelnen Monoschichten und  $\phi_0$  die Gleichgewichtslipiddichte für eine flache Membran. Für eine Doppelschicht der Dicke  $\delta$  mit lokalen skalierten Lipiddichteabweichungen

$$\rho^+ \equiv \frac{\phi^+}{\phi_0(1 - 2M\delta)} - 1 \quad \text{und} \quad \rho^- \equiv \frac{\phi^-}{\phi_0(1 + 2M\delta)} - 1 \quad (2.2)$$

in den Monoschichten ergibt sich in niedrigster Ordnung von  $M\delta$  mit  $\rho = (\rho^+ - \rho^-)/2$  und  $\bar{\rho} = (\rho^+ + \rho^-)/2$  ein Beitrag von [86, 87]

$$E_{stretch} = k \oint \left\{ \bar{\rho}^2 + (\rho - 2dM)^2 \right\} dA. \quad (2.3)$$

Die Minimierung der Gesamtenergie in bezug auf die lokalen Dichteabweichungen  $\rho^+$ ,  $\rho^-$  bei gegebenen konstanten Teilchenzahlen  $N^+$ ,  $N^-$  in den Monoschichten<sup>1</sup> und vorgegebener Vesikelform liefert mit

$$\Delta A = 4d \oint M dA + O(d^2)$$

und

$$\Delta A_0 = \frac{N^+ - N^-}{\phi_0}$$

unter Vernachlässigung osmotischer Effekte und spontaner Krümmungen eine Gesamtenergie [87]

$$E_{ges} = \frac{\kappa}{2} \oint (2M)^2 dA + \frac{k}{4A} (\Delta A - \Delta A_0)^2 + kA \left( \frac{N^+ + N^-}{2\phi_0 A} - 1 \right)^2. \quad (2.4)$$

### 2.1.1 Osmotische Effekte

Durch das Vorhandensein großer Moleküle innerhalb und außerhalb des Vesikelvolumens, die nicht die Vesikelmembran durchdringen können, entsteht ein osmotischer Druck  $\Delta\pi$ , der für verdünnte Systeme durch das van't Hoffsche Gesetz [88, 89] beschrieben wird

$$\Delta\pi = \left( \frac{N}{V} - c_{ex} \right), \quad (2.5)$$

wobei  $N$  die Anzahl osmotisch aktiver Teilchen im Vesikelinneren,  $V$  das Vesikelvolumen und  $c_{ex}$  die Konzentration osmotisch aktiver Teilchen außerhalb der Vesikel ist. In integrierter Form [90, 87] ergibt sich schließlich ein Beitrag

$$E_{osm} = T \left( -N \ln \frac{V}{V_{ref}} + c_{ex} V \right) \quad (2.6)$$

mit einem beliebigen Referenzvolumen  $V_{ref}$  zur Gesamtenergie der Vesikel.

In der vorliegenden Arbeit werden reduzierte Einheiten verwendet, wobei als Referenzgrößen die thermische Energie  $T$  und der Vesikelradius  $R_0$  dienen.

Nimmt man für die Konzentration osmotisch aktiver Teilchen einen typischen Wert  $c = 10^{-4} \text{ mol/m}^3$  an und für die Biegesteifigkeit der Vesikelmembran  $\kappa = 10T$  bei Raumtemperatur [87], so daß

$$RTcV_0 \simeq 10^3 \kappa \quad (2.7)$$

gilt<sup>2</sup> [87], dann ergibt sich  $c \simeq 3000/R_0^3$  und  $N \simeq 10000$  für Monte-Carlo-Simulationen, in denen Temperaturen von  $T \simeq 0.1 \kappa$  betrachtet werden.

### 2.1.2 Konstante Fläche und konstantes Volumen

Anhand der in Experimenten gemessenen Materialparameter ergibt sich in der Praxis die Invarianz einiger Größen.

Für Vesikeln mit Radien um  $10 \mu\text{m}$  fanden Evans und Needham [91] eine Biegesteifigkeit von  $\kappa \simeq 10^{-19} \text{ J}$  und einen Flächenkompressionsmodul von  $k \simeq 0.1 \text{ J m}^{-2}$ . Wegen  $kA \simeq 10^{-10} \text{ J} \gg \kappa$  sind Größenänderungen des Vesikeloberfläche gegenüber Formveränderungen zu vernachlässigen. Daher wird im folgenden eine konstante Vesikeloberfläche  $A = 4\pi R_0^2$  angenommen.

<sup>1</sup>Diese Annahme ist für mehrkomponentige Membranen in der Regel nicht erfüllt.

<sup>2</sup> $R = 8.314 \text{ J m}^{-3} \text{ K}^{-1}$  ist die universelle Gaskonstante.

In gleicher Art und Weise findet man, daß lediglich Konzentrationsunterschiede osmotisch aktiver Teilchen in und außerhalb der Vesikel von weniger als  $0.1 \text{ mmol l}^{-1}$  durch die Biegeenergie kompensiert werden können. Für größere Konzentrationsunterschiede ändert sich – soweit es die Geometrie erlaubt – das Vesikelvolumen so lange, bis die Differenz der osmotischen Drücke verschwindet.

In diesem Zusammenhang ist die Einführung des reduzierten Vesikelvolumens [87] üblich

$$v = \frac{V}{\frac{4\pi}{3}R_0^3} = 6\sqrt{\pi}VA^{-3/2}. \quad (2.8)$$

### 2.1.3 Resultierende Membranmodelle

Mit den obengenannten Annahmen ergeben sich unter anderem folgende Membranmodelle, wobei osmotische Effekte ausklammert werden sollen:

Beim *Spontaneous Curvature* Modell findet der Energieausdruck (2.1) zusammen mit festgehaltener Fläche Anwendung. Mögliche Asymmetrien in der Lipiddoppelschicht werden in der spontanen Krümmung  $M_{sp}$  berücksichtigt, die gegebenenfalls auf der Vesikeloberfläche variieren kann.

Eine zusätzlich vorgegebene Invarianz der Flächendifferenz  $\Delta A$  in (2.4), das heißt des Integrals  $\oint M dA$ , führt auf das *Bilayer Couple* Modell [57, 58, 59]. Spontane Krümmungen sind jedoch in diesem Modell nicht berücksichtigt [38, 64].

Wird die Flächendifferenz  $\Delta A$  nicht festgehalten (aber die Anzahlen  $N^+$  und  $N^-$  der Lipidmoleküle in den Monoschichten), so ergeben sich schließlich die *Area-Difference-Elasticity* Modelle mit und ohne spontaner Krümmung (siehe etwa [60, 61, 62, 63, 87]).

Die sich hieraus ergebenden Minimalflächen ( $T = 0$ ) wurden in [38, 64] für ein Minimalmodell mit lokaler Krümmungsenergie (Gleichung (2.1) mit  $M_{sp} \equiv 0$ ), das *Bilayer Couple* Modell und das *Spontaneous Curvature* Modell sowie in [65] für das *Area-Difference-Elasticity* Modell bei vorgegebenen reduzierten Volumina berechnet.

## 2.2 Adhäsion

Die Wechselwirkung von Biomembranen und Substraten ist im wesentlichen durch kurzreichweitige attraktive Potentiale und die (langreichweitige) entropische Abstoßung vom Substrat dominiert [4, 92]. Dabei ist die Reichweite der attraktiven Potentiale von der Größenordnung im Nanometerbereich und somit erheblich kleiner als typische Vesikelradien. Für den Fall, daß die Kontaktfläche  $A^*$  einer adhärennten Vesikel ungefähr gleich ihrer Projektion  $A_p^*$  auf das Substrat ist, also insbesondere, wenn  $T = 0$  ist, kann das attraktive Potential  $W(z)$  mit einem Beitrag

$$E_{substrate} = \oint W(z) dA \quad (2.9)$$

zur Gesamtenergie der Vesikel näherungsweise durch ein effektives Kontaktpotential ersetzt werden, das einen Energiebeitrag

$$E_a = -W_0 A^* \quad (2.10)$$

liefert [93]. Die Potentialtiefe  $W_0$  ist dabei eine positive Konstante. Unabhängig vom Krümmungsmodell ergibt sich bei  $T = 0$  eine Kontaktkrümmung von [93]

$$\frac{1}{R^*} = \sqrt{\frac{2W_0}{\kappa}}. \quad (2.11)$$

Ohne vorgegebenes Volumen hängt die Größe der Kontaktfläche nur von der reduzierten Potentialtiefe

$$w = \frac{W_0 R_0^2}{\kappa} \quad (2.12)$$

ab und verschwindet [93] für

$$w = w_a = 2 \quad (2.13)$$

bzw.

$$W_0 = W_a = 2\kappa/R_0^2. \quad (2.14)$$

Bei endlichen Temperaturen lassen sich folgende qualitativen Vorhersagen machen [94, 95, 87]: Für langreichweitige Potentiale findet mit abnehmender Potentialtiefe zunächst ein kontinuierlicher Übergang von deformierten adhärten Vesikeln zu adhärten Vesikeln statt, die annähernd die Form freier Vesikeln besitzen. Schließlich erfolgt ein thermisch induziertes Ablösen vom Substrat.

Im Falle kurzreichweitiger Potentiale mit einem Abstand  $\ell_0 \ll R_0$  des Potentialminimums vom Substrat kann wieder von einem effektiven Kontaktpotential ausgegangen werden. Unterhalb der kritischen reduzierten Potentialtiefe  $w_a$ , die für eine endliche Adhäsionsfläche notwendig ist, geht die Vesikel jedoch nicht in einen freien Zustand, sondern in einen gepinnten über. Dabei nimmt die Vesikel annähernd die Form für den freien Zustand an, ist aber noch im Potential gebunden. Schließlich erfolgt mit abnehmender Potentialtiefe auch hier ein thermisches Ablösen vom Substrat.

Für große Vesikeln mit

$$R_0 > R_c \equiv \frac{\kappa}{T} \ell_0 \quad (2.15)$$

wird in kurzreichweitigen Potentialen mit einer Tiefe, die betragsmäßig kleiner als

$$\frac{T^2}{\ell_0^2 \kappa} \quad (2.16)$$

ist, auf Grund von Formfluktuationen in der Kontaktfläche kein gepinnter Zustand angenommen.

## 2.3 Gravitation

Durch ein Vorhandensein osmotisch aktiver Teilchen im und außerhalb des Vesikelvolumens stellt sich durch den osmotischen Druck in der Vesikel die gleiche Teilchenkonzentration wie in der umgebenden Flüssigkeit ein, sofern dies geometrisch möglich ist. Bei Verwendung osmotisch aktiver Teilchen unterschiedlicher molarer Massen, zum Beispiel verschiedener Zucker, ergibt sich ein Beitrag von

$$E_{gravi} = \bar{g} \Delta\mu \int z dV \quad (2.17)$$

zur Gesamtenergie der Vesikel, wobei  $\Delta\mu$  der Massendichteunterschied der Flüssigkeiten in bzw. außerhalb der Vesikel ist und  $\bar{g}$  die Feldstärke des homogenen Schwerfeldes. Die sich durch Energieminimierung ergebenden, mitunter nicht rotationssymmetrischen Formen einer Vesikel im Schwerfeld an einer rein repulsiven Wand wurden von Kraus et al. bestimmt [96].

Verschwindet obige Dichtedifferenz, so ist dieselbe Gleichung (2.17) auf den weitaus geringeren Beitrag der Massendichtedifferenz zwischen Lipiddoppelschicht und der umgebenden Flüssigkeit anzuwenden. Die Massendichtedifferenz von Wasser und kompakten Mengen reinen Phospholipids steht dabei nicht in direkter Beziehung zu der eben genannten.

## 2.4 Zweikomponentige Vesikeln

Für zweikomponentige Vesikeln in der Nähe des Phasenübergangspunkts führt man die Konzentrationsdifferenz  $\Phi$  als Ordnungsparameter ein [97]. Mit einem Ginzburg-Landau-Ansatz ergeben sich folgende zwei zusätzliche Beiträge zur Gesamtenergie:

$$E_{GL} = \oint \left\{ \frac{b}{2} (\nabla\Phi)^2 + f(\Phi) \right\} dA \quad (2.18)$$

mit einer lateralen Freie-Energie-Dichte  $f$  und einem Modellparameter  $b$  sowie als Kopplungsterm mit der lokalen Geometrie

$$E_{couple} = \Xi \oint \Phi M dA \quad (2.19)$$

mit einem Kopplungsparameter  $\Xi$ . Für Zweiphasensysteme mit vorgegebenen Zusammensetzungen und Flächeninhalten reduziert sich das Problem auf eine Linienspannung an der Phasengrenze sowie zwei Biegesteifigkeiten [98, 99]. Soll zusätzlich eine Berücksichtigung der Gaußschen Krümmung erfolgen, so sind zwei Gaußsche Biegesteifigkeiten für die beiden Phasen einzuführen [99].

In der vorliegenden Arbeit soll jedoch eine Beschränkung auf konische Moleküle einer zusätzlichen zweiten Komponente in der Membran erfolgen. Sei  $N_{sc}$  deren Anzahl,  $n_{sc}$  die lokale Moleküldichte und  $\bar{n}_{sc}$  die mittlere Moleküldichte pro Einheitsfläche. Entsprechend Markins Ansatz [100, 101] wird eine lokale spontane Krümmung angenommen, die linear von der Dichte  $n_{sc}$  abhängt:

$$M_{sp} = c_{sp} n_{sc}. \quad (2.20)$$

Eine spontane Krümmung der ursprünglich einkomponentigen Membran möge nicht vorliegen. Ferner sollen lediglich entropische Effekte für die Teilchen der zweiten Komponente angenommen werden [102, 103], die folgenden Energiebeitrag ergeben:

$$\Delta E_{sc} = T \oint n_{sc} \ln \frac{n_{sc}}{\bar{n}_{sc}} dA. \quad (2.21)$$

Dieser Ausdruck liefert die Differenz der potentiellen Energie zwischen einer inhomogenen und der homogenen Verteilung der Einschlüsse.

## 2.5 Längenabhängige Materialparameter

In den vorangegangenen Überlegungen wurde auf Fluktuationen wenig eingegangen. Diese sind bei der Berechnung von Minimalflächen irrelevant, vom osmotisch vorgegebenem Volumen, das Raumtemperatur voraussetzt, einmal abgesehen.

Bei endlicher Temperatur, hingegen, wird zum Beispiel die mittlere Krümmung im Canham-Helfrich-Ansatz für die Biegeenergie (Gleichung (2.1)) abhängig von der Längenskala. Ein unterer Grenzwert ist dabei durch die Dicke der Lipiddoppelschicht gegeben, unterhalb derer die Modellannahmen für den Canham-Helfrich-Ansatz nicht mehr erfüllt sind. Diese Längenabhängigkeit führt schließlich zu einer Skalenabhängigkeit der Biegesteifigkeit und der Gaußschen Biegesteifigkeit. Das Renormierungsverhalten konnte bisher analytisch nur für den Fall auf großen Längenskalen planarer Membranen bestimmt werden [104, 85]:

$$\kappa(\ell) = \kappa(\ell_0) - \frac{3T}{4\pi} \ln \frac{\ell}{\ell_0}. \quad (2.22)$$

Gompper und Kroll konnten dieses Ergebnis unter Verwendung von Skalenargumenten mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen für Vesikeln bestätigen [81].

Die Gaußsche Biegesteifigkeit  $\bar{\kappa}$  und der Flächenkompressionsmodul  $k$  folgen ähnlichen Renormierungsbeziehungen [105, 106].

## 2.6 Bestimmung der Materialparameter

Die Bestimmung der Materialparameter fluider Membranen erfolgt üblicherweise an Vesikeln aus dem entsprechenden Material. Die Biegesteifigkeit und der Flächenkompressionsmodul können unter anderem aus dem Vergleich experimentell beobachteter Formen von in Pipetten eingesaugten Vesikeln mit berechneten Formen minimaler Konfigurationsenergie erhalten werden [107, 108, 91]. Hierbei können auch Fluktuationen der Vesikelmembran außerhalb der Pipette berücksichtigt werden [106, 109]. Weitere Meßmethoden basieren auf Eigenschaften aus der Vesikelmembran herausgezogener dünner Membranfäden [110, 62, 111] oder etwa auf der Analyse thermischer Fluktuationen freier Vesikeln [112, 113, 114, 115]. Auch die Messung homogener spontaner Krümmungen ist möglich [40]. Leider liefern die genannten Methoden Werte für die Materialkonstanten, die sich mitunter um Faktoren signifikant größer als Eins unterscheiden. Im wesentlichen findet man für Lipidmembranen

$$\kappa \simeq 10^{-19} \text{ J} \quad (2.23)$$

oder

$$\kappa \simeq 10 T \quad (2.24)$$

bei Raumtemperatur für die Biegesteifigkeit und

$$k \simeq 0.1 \text{ J m}^{-2} \quad (2.25)$$

für den Flächenkompressionsmodul [91].

## Kapitel 3

# Monte-Carlo-Simulationen für fluide Vesikeln

In den in der vorliegenden Arbeit werden Monte-Carlo-Simulationsverfahren [90, 116, 117, 118] für die Berechnung von Mittelwerten und statistische Eigenschaften fluider Vesikeln verwendet. Um dabei die kanonische Verteilung als stationäre Verteilung zu erhalten, ist detailliertes Gleichgewicht hinreichend. Dieses besagt, daß die Übergangswahrscheinlichkeiten  $P(\omega \rightarrow \omega')$  bzw.  $P(\omega' \rightarrow \omega)$  in der Monte-Carlo-Simulation zwischen je zwei Konfigurationen  $\omega$  und  $\omega'$  mit Konfigurationsenergien  $E$  bzw.  $E'$  der Beziehung

$$\frac{P(\omega \rightarrow \omega')}{P(\omega' \rightarrow \omega)} = \exp\left(\frac{E - E'}{T}\right) \quad (3.1)$$

genügen. Eine häufig genutzte Wahl für die Akzeptanz und Ablehnung von Monte-Carlo-Schritten ist der auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendete Metropolis-Algorithmus [119] mit<sup>1</sup>

$$P(\omega \rightarrow \omega') = \min\left\{1, \exp\left(\frac{E - E'}{T}\right)\right\}. \quad (3.2)$$

Auf Grund der sehr großen Anzahl von Freiheitsgraden bei einer Simulation auf molekularer Ebene, wurden die betrachteten Vesikeln durch triangulierte Membranen modelliert.

### 3.1 Triangulierung von Vesikeloberflächen

#### 3.1.1 *Tethered-Beads* Modell

Zur diskretisierten Beschreibung der Vesikelmembran wird in der vorliegenden Arbeit das von Kantor et al. [74, 75, 76] entwickelte und von Ho und Baumgärtner [78, 79] sowie von Kroll und Gompper [80] für die Anwendung auf fluide Vesikeln modifizierte *Tethered-Beads* Modell verwendet. Das ursprüngliche Modell weist Vertices einen Radius  $R$  und damit einen Mindestabstand  $2R$  zu den jeweils anderen Vertices zu und Kanten eine Maximallänge von  $2\sqrt{3}R$ , die nicht erreicht werden darf. Weitere Bedingungen oder Energieterme werden zunächst außer Acht gelassen. Allein durch die obengenannte geometrische Einschränkung kann eine Selbstdurchdringung der Membran verhindert werden. In der ursprünglichen Formulierung mit invarianter Konnektivität für polymerisierte Flächen wirken die Kanten als Gaußsche Federn. Die notwendige Verallgemeinerung des Modells für fluide Membranen, deren Schermodul verschwindet, wurde von Ho und

---

<sup>1</sup>Wenn keine anderen Temperaturwerte angegeben sind, ist in der gesamten Arbeit die Temperatur  $T = 1$  gesetzt.

Baumgärtner [78, 79] sowie von Kroll und Gompper [80] durch dynamische Veränderung der Konnektivität erreicht (sogenannte *Bond Flips*, siehe Abschnitt 3.2.2). Eine ausführliche Untersuchung derartig triangulierter Vesikeln in Verbindung mit einem physikalischen Membranmodell, das die Konfigurationsenergie der Vesikel festlegt, erfolgte von Gompper et al. [80, 82, 83, 81].

Den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Simulationen liegt als physikalisches Membranmodell das *Spontaneous Curvature* Modell zugrunde, wobei das Vesikelvolumen entweder überhaupt nicht oder durch die osmotischen Bedingungen vorgegeben ist.

Wie oben erwähnt, entsteht durch die Triangulierung der Membran zusätzlich eine endliche Flächenkompressibilität. Eine Abschätzung der mittleren Tetherlänge findet sich in Anhang A.

### 3.1.2 Diskretisierung der Biegeenergie

Im Zusammenhang mit der Triangulierung der Vesikelmembran ist die Verwendung diskretisierter Ausdrücke für die Observablen notwendig. Für die mittlere Krümmung bzw. deren Integral über die Oberfläche von Polyedern läßt sich dies in Form von Beiträgen für die einzelnen Kanten der Triangulierung realisieren [120]. Ist  $L$  die Länge einer Kante und  $\theta$  der Winkel zwischen den Flächennormalenvektoren der anliegenden Dreiecke, so ergibt sich ein positiver oder negativer Beitrag [120]

$$\frac{1}{2}L\theta \quad (3.3)$$

zum Integral der mittleren Krümmung über die durch die Triangulierung beschriebene Polyederoberfläche. Das Vorzeichen hängt davon ab, ob eine konvexe oder konkave Krümmung in bezug auf die willkürlich ausgezeichnete Referenzseite der orientierten Fläche vorliegt. Eine ähnliche Darstellung für das Quadrat der mittleren Krümmung ist nicht möglich. Dies würde auf eine von der globalen Membranform abhängige Biegesteifigkeit führen [81]. Eine Möglichkeit dieses Problem zu umgehen, besteht darin, zunächst, wie oben beschrieben, die lokale mittlere Krümmung zu berechnen, dann deren Quadrat und die entsprechenden Beiträge zur Biegeenergie [81]. Im folgenden wird auf die Implementation von Kumar et al. [121] zurückgegriffen, in der die lokale mittlere Krümmung auf den einzelnen Dreiecken berechnet wird. Seien mit  $t$  die Dreiecke der Triangulation bezeichnet, mit  $A_t$  deren Flächeninhalte, mit  $L_{ti}$  die Längen der Dreieck  $t$  begrenzenden Kanten bzw. die Kanten selbst, mit  $\theta_{ti}$  die gegebenenfalls negativen Winkel zwischen den Flächennormalenvektoren der an Kante  $L_{ti}$  anliegenden Dreiecke und mit  $M_{sp,t}$  die spontanen Krümmungen auf den Dreiecken. Dann wird die Biegeenergie durch folgenden Ausdruck approximiert

$$E_{el} = \frac{\kappa}{2} \sum_t \left( \frac{\sum_i L_{ti}\theta_{ti}}{2A_t} - M_{sp,t} \right)^2 A_t. \quad (3.4)$$

Die Verwendung der vorzeichenbehafteten mittleren Krümmung zur Berechnung der Biegeenergie erlaubt zudem die Berücksichtigung spontaner Krümmungen im Rahmen des *Spontaneous Curvature* Modells.

### 3.1.3 Modell für ein attraktives planares Substrat großer Dicke

Für attraktive Substrate mit Potentialen, die große Gradienten aufweisen, ist eine möglichst genaue Berechnung der potentiellen Energie unerlässlich, um eine gute Mittelwertbildung in der Monte-Carlo-Simulation zu erreichen. Für Square-Well-Potentiale ist zwar der Rechenzeitaufwand gering, jedoch sind sie im Gegensatz zu realen Potentialen unstetig.



Ein Lennard-Jones-12-6-Potential, das über das als kompakten Halbraum angenommene planare Substrat aufintegriert wurde, führt nicht auf dieses Problem. Das resultierende Lennard-Jones-9-3-Potential

$$W(z) = W_{LJ} \left( \frac{1}{90} \left( \frac{\sigma_{LJ}}{z} \right)^9 - \frac{1}{12} \left( \frac{\sigma_{LJ}}{z} \right)^3 \right) \quad (3.5)$$

mit der Potentialtiefe  $W_{LJ}$  (Energie pro Fläche für Membranen konstanter geringer Dicke) und charakteristischer Länge  $\sigma_{LJ}$  läßt sich auf den Dreiecken exakt mit vernünftigen numerischen Aufwand berechnen. Dieses Verfahren wurde bei der Modellierung attraktiver Substrate verwendet.

### 3.1.4 Berücksichtigung einer zweiten Komponente in der Vesikelmembran

Die Berücksichtigung einer zweiten Komponente in der Vesikelmembran erfolgt durch Vorgabe der Stoffmenge auf den Dreiecken der Triangulierung. Die resultierende Flächendichte  $n_{sc}$  wird als konstant auf den Dreiecken angenommen und der entropische Beitrag  $\Delta E_{sc}$  zur Konfigurationsenergie entsprechend lokal auf den Dreiecken berechnet.

## 3.2 Monte-Carlo-Schritte

### 3.2.1 Bewegung einzelner Vertices

Die Bewegung einzelner Vertices erfolgt wie bei konventionellen Teilchensystemen [90], wobei das Wechselwirkungspotential durch die diskretisierte Konfigurationsenergie der Vesikel in Verbindung mit dem Potential des *Tethered-Beads* Modells gegeben ist. Die resultierenden Mindestabstände gelten dabei nicht nur für mit einer Kante in der Triangulierung verbundene Vertices, sondern für beliebige Vertices, um die mit dem *Tethered-Beads* Modell beabsichtigte Selbstvermeidung der Membran zu erreichen. Es zeigt sich aber, daß in Fällen sphärischer Vesikeln oder Vesikeln unter Einfluß osmotischer Drücke hierauf in der Simulation nicht streng geachtet werden muß.

Die maximale Distanz für Vertexbewegungen wurde bei den durchgeführten Simulationen eingangs adaptiv so festgelegt, daß ca. 40% der Vertexbewegungen akzeptiert werden.

### 3.2.2 Bond Flips

Flüssigkeiten haben einen verschwindenden Schermodul. Es sind also in den Simulationen Änderungen der Konnektivität der Vertices im Rahmen des *Tethered-Beads* Modell zuzulassen. Dabei wird die gemeinsame Kante zweier benachbarter Dreiecke entfernt, und die bisher nicht verbundenen Vertices werden durch eine neue Kante verbunden [80]. Entstehen dabei zwei bis auf ihre Orientierung identische Dreiecke, divergiert die Biegeenergie und der Monte-Carlo-Schritt kann unmittelbar nach dessen Auswahl ohne weitere Energieberechnungen verworfen werden.

Es ist jedoch zu beachten, daß bei triangulierten Vesikeln mit Volumina nahe dem im *Tethered-Beads* Modell maximal möglichen keine bzw. kaum noch *Bond Flips* möglich sind. Durch eine Festlegung der mittleren Kantenlänge in Abhängigkeit von der Größe der triangulierten Fläche (siehe zum Beispiel Gleichung (A.4)) läßt sich dieses Problem umgehen.

### 3.2.3 Einachsige Deformation

In Abschnitt 5 wird die Asphärizität von Vesikeln betrachtet. Es wird ein Maß für die Asphärizität auf der Basis des Trägheitstensors des Vesikelvolumens eingeführt. Der Trägheitstensor ist jedoch eine Größe, die durch die Bewegung einzelner Vertices nur wenig Veränderung erfährt. Ähnlich wie bei *NPT*-Simulationen von Teilchensystemen [90] sind daher Skalierungen oder andere Monte-Carlo-Schritte notwendig, um Änderungen der Asphärizität zu bewirken. Wählt man willkürlich eine der drei Hauptachsen des Trägheitstensors aus (mit Richtungsvektor  $\mathbf{n}$ ,  $|\mathbf{n}| = 1$ ) und skaliert die auf diese Achse projizierten Abstände  $|(\mathbf{r} - \hat{\mathbf{r}}) \cdot \mathbf{n}|$  der Vertices mit Ortsvektor  $\mathbf{r}$  bezüglich des Schwerpunkts  $\hat{\mathbf{r}}$  des Vesikelinneren, so bleiben die Hauptachsen des Trägheitstensors invariant. Der Vektor  $\mathbf{r}$  wird also auf den Vektor  $\mathbf{r}'$  mit

$$\mathbf{r}' = \mathbf{r} + (\alpha - 1) (\mathbf{r} - \hat{\mathbf{r}}) \cdot \mathbf{n} \mathbf{n} \quad (3.6)$$

abgebildet. Der Skalierungsfaktor sei mit  $\alpha$  bezeichnet. Um *Detailed Balance* zu gewährleisten, wurde  $\alpha$  in den Simulationen so gewählt, daß sich der Maximalwert von

$$\ell_{\mathbf{n}} \equiv |(\mathbf{r} - \hat{\mathbf{r}}) \cdot \mathbf{n}| \quad (3.7)$$

auf der Vesikelmembran um einen Betrag  $\delta$  ändern darf, der zwischen  $-0.03$  und  $+0.03$  gleichverteilt ist. Es ist also

$$\alpha = \frac{\ell_{\mathbf{n}} + \delta}{\ell_{\mathbf{n}}}. \quad (3.8)$$

### 3.2.4 Laterale Vertexbewegung in kritischen Regionen

Während des Durchgangs von Vesikeln durch Poren findet eine Scherung der Membran an Porenein- und -ausgang statt. Um derartige Umordnungsprozesse innerhalb weniger Simulationsschritte im Vergleich zur Gesamtsimulation zu ermöglichen, ist eine bevorzugte Bewegung von Vertices in den obengenannten Regionen von Vorteil. Ein Vertex gehöre zu einer solchen Region, wenn sein Abstand einen bestimmten Wert zu der den Porenein- bzw. -ausgang beschreibenden Ebene  $\mathcal{E}$  nicht überschreitet.

Der ausgewählte Vertex wird testweise parallel zur Ebene  $\mathcal{E}$  verschoben, und dieser Schritt wird wie bei den sonstigen angenommen oder abgelehnt. Da sich hierdurch nicht die Menge der Vertices ändert, die sich nahe der Ebene  $\mathcal{E}$  befinden, bleibt das detaillierte Gleichgewicht erhalten. Gleiches gilt offensichtlich für *Bond Flips* zwischen zwei benachbarten Dreiecken, deren sämtliche Vertices zu einer solchen Region gehören.

### 3.2.5 Spiegelung an invarianten Ebenen

Die Spiegelung von Vertices ohne Veränderungen der lokalen Konnektivität an invarianten Ebenen, die durch die nicht bewegten nächsten Nachbarn definiert werden, erleichtert das Ausbilden und Verschwinden von Undulationen in der Membran. Dies betrifft im speziellen Bereiche großer Vertexkonzentration, wo viele Monte-Carlo-Schritte wegen Unterschreiten des minimalen Abstands im *Tethered-Beads* Modell abgelehnt werden. Für rauhe triangulierte Oberflächen ist diese Situation von besonderer Relevanz.

Die hier betrachtete invariante Ebene, zu der die Summe der Abstandsquadrate der nicht bewegten nächsten Nachbarn mit Ortsvektoren  $\mathbf{r}_i$ ,  $i = 1, \dots, N$ , innerhalb der Triangulierung am kleinsten ist, läßt sich wie folgt angeben: Der Normaleneinheitsvektor  $\mathbf{n}$  ist gegeben durch den normierten Eigenvektor zum kleinsten Eigenwert der Matrix

$$\sum_{i=1}^N \left( \mathbf{r}_i - \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \mathbf{r}_j \right) \cdot \left( \mathbf{r}_i - \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \mathbf{r}_j \right)^t \quad (3.9)$$

und der Abstand zum Ursprung durch

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N r_i \cdot \mathbf{n}. \quad (3.10)$$

### 3.2.6 Umverteilung der zweiten Membrankomponente

Bei Vorhandensein einer zweiten Komponente in der Vesikelmembran werden Monte-Carlo-Schritte durchgeführt, in denen die Stoffmenge der zweiten Komponente von zwei zufällig ausgewählten Dreiecken neu auf diese verteilt wird. Der prozentuale Anteil der Summe der Stoffmengen, der den beiden Dreiecken neu zugewiesen wird, ist gleichverteilt zwischen null und eins.

Dieses Verfahren wird auch bei *Bond Flips* bei Vorhandensein einer zweiten Komponente in der Vesikelmembran angewendet.

## 3.3 Berechnung charakteristischer Größen

Die Berechnung einiger charakteristischer Größen einer triangulierten Vesikel wie Volumen, Schwerpunktskoordinaten und Massenträgheitsmoment läßt sich auf Integrale über das Vesikelvolumen zurückführen und folglich – mit Hilfe des Gaußschen Integralsatzes – durch Integrale über die triangulierte Vesikeloberfläche berechnen. Die dabei auftretenden Polynome in den drei Koordinaten lassen sich analytisch über die einzelnen Dreiecksflächen integrieren.

Das Vesikelvolumen  $V$  wurde zum Beispiel unter Verwendung der Beziehung

$$V = \int zn_z dA \quad (3.11)$$

in den Simulationen berechnet, wobei  $n_z$  die  $z$ -Komponente des nach außen zeigenden Normalenvektors auf der Vesikeloberfläche ist.

## 3.4 Geometrische Nebenbedingungen

Bei den in der vorliegenden Arbeit betrachteten Vesikeln sind die Oberfläche, das Volumen und beim *Bilayer-couple* Modell zusätzlich das Integral der mittleren Krümmung im wesentlichen konstant (siehe Abschnitt 2.1.2).

In den durchgeführten Computer-Simulationen wurde ausschließlich das *Spontaneous Curvature* Modell untersucht. Die obengenannten Einschränkungen an die Oberfläche wurde durch das Festlegen einer mittleren Oberfläche auf  $A_0 = 4\pi R_0^2$  und einer geringen Schwankungsbreite berücksichtigt. Letztere ist notwendig, um von einer Konfiguration zu einer anderen mit den obigen Monte-Carlo-Schritten zu gelangen und dabei eine vernünftige Akzeptanzrate zu erreichen.

Die Festlegung des Vesikelvolumens erfolgte durch Berücksichtigung osmotisch aktiver Teilchen, um auch osmotische Drücke in der Vesikel berücksichtigen zu können, die größer sind als in der umgebenden Flüssigkeit, oder um Vesikeln zu betrachten, deren umgebende Flüssigkeit eine räumlich variierende Osmolarität besitzt, zum Beispiel in Form unterschiedlicher Osmolaritäten auf den beiden Seiten einer engen Pore. Die Größe der Teilchendichten orientiert sich dabei an den experimentellen Werten, für die (siehe Gleichung (2.7))

$$RTcV_0 \simeq 10^3 \kappa \quad (3.12)$$

gilt. Unter Verwendung reduzierten Einheiten und Konzentrationen  $c_{ex}$  in den Simulationen, die die Einheit  $1/R_0^3$  besitzen, läßt sich diese Gleichung umschreiben in

$$c_{ex} V_0 T \simeq 10^3 \kappa \quad (3.13)$$

und

$$c_{ex} \simeq 250 \frac{\kappa}{T R_0^3} \quad (3.14)$$

### 3.5 Erzeugung der Startkonfigurationen

Die Erzeugung der Starttriangulierungen für die durchgeführten Simulationen erfolgte, indem, ausgehend von einem regulären Oktaeder im Koordinatenursprung, sukzessive in der Mitte einer der längsten Kanten ein neuer Vertex eingeführt wurde. Zwischen zwei derartigen Kantenhalbierungen wurden zur Relaxation und zur Erfüllung der Einschränkungen an die Größe der Vesikeloberfläche<sup>2</sup> und der Kantenlängen im *Tethered-Beads* Modell Vertexbewegungen und *Bond Flips* entsprechend dem Metropolis-Algorithmus sowie Projektionen der Vertices auf die Einheitskugel um den Ursprung durchgeführt. Wurde nach anfänglicher Verletzung der Einschränkung der Vesikeloberfläche diese im Laufe der Relaxation erfüllt, so wurden Monte-Carlo-Schritte abgelehnt, die zu einer neuerlichen Verletzung geführt hätten. Durch die Projektion auf die Einheitskugel wurde im allgemeinen die Einschränkung an den Flächeninhalt erfüllt. In analoger Weise wurden nur solche Monte-Carlo-Schritte akzeptiert, bei denen die Anzahl der dem *Tethered-Beads* Modell widersprechenden Kantenlängen nicht wuchs. Auf diese Weise konnten Triangulierungen mit beliebigen Vertexanzahlen  $N_e$  bis 1500 erzeugt werden. Dieses Verfahren benötigt jedoch mit zunehmender Vertexanzahl immer längere Rechenzeiten, so daß noch größere Triangulierungen kaum zu erreichen sind. Diese können bei den derzeitigen Rechnerleistungen auf Grund zu langer Relaxationszeiten ohnehin nicht in Monte-Carlo-Simulationen verwendet werden. Charakteristische Startkonfigurationen mit 100 bzw 400 Vertices sind in Abbildung 3.1 dargestellt.

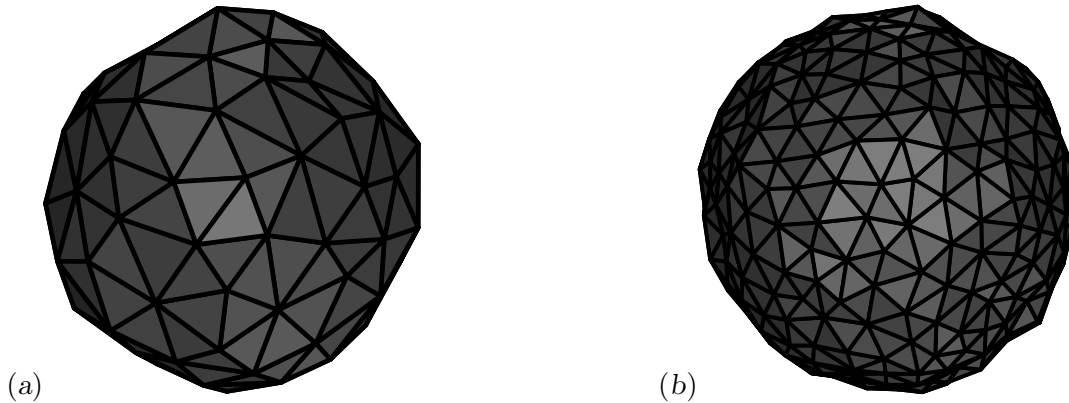


Abbildung 3.1: Charakteristische Startkonfigurationen mit 100 (a) bzw. 400 (b) Vertices.

<sup>2</sup>Die Soll-Oberfläche hängt von der Vertexanzahl ab.

## Kapitel 4

# Berechnung freier Energien

Für eine Vielzahl von Anwendungen ist nicht nur die Kenntnis von Ableitungen freier Energien, sondern auch die freie Energie selbst von Interesse. Dies trifft insbesondere dann zu, wenn Aufenthaltszeiten und Übergangsraten (*Kramers-Escape-Problem* [122, 123, 124]) zwischen metastabilen Zuständen bestimmt werden sollen.

Die Berechnung freier Energien ist nur für wenige Modellsysteme analytisch möglich, so daß Simulationen für die betrachteten Systeme durchzuführen sind.

### 4.1 Freie Energie als Funktion äußerer Parameter

In vielen Fällen läßt sich ein vorgegebenes Ensemble in Teilmengen aufteilen, die durch Parameter  $\mathbf{s} = \{s_1, \dots, s_m\}$  charakterisiert sind. Durch das Festlegen der Parameter  $\mathbf{s}$  werden die eingeschränkte Zustandssumme

$$Z(\mathbf{s}) = \int d\Gamma \exp\left(-\frac{E(\Gamma)}{T}\right) \delta(\mathbf{s}'(\Gamma) - \mathbf{s}) \quad (4.1)$$

und die eingeschränkte freie Energie

$$F(\mathbf{s}) = -T \ln Z(\mathbf{s}) \quad (4.2)$$

definiert [125], wobei sich die Integration in Gleichung (4.1) über den gesamten Konfigurationsraum erstreckt. Die resultierenden verallgemeinerten Kräfte

$$\mathbf{f}(\mathbf{s}) = -\nabla_{\mathbf{s}} F(\mathbf{s}) \quad (4.3)$$

sind für räumliche Abstände echte (mittlere) Kräfte, können aber für andere Parameter sehr abstrakten Charakter haben.

### 4.2 Thermodynamische Integration

Ein weit verbreitetes Verfahren zur Berechnung freier Energien ist die sogenannte thermodynamische Integration [90], die dann Anwendung finden kann, wenn der Parameter  $a$ , bezüglich dessen Differenzen der freien Energie berechnet werden sollen, so in der potentiellen Energie  $E$  auftritt, daß der Mittelwert  $\left\langle \frac{\partial E/T}{\partial a} \right\rangle$  berechnet werden kann. Es gilt nämlich

$$\frac{\partial F/T}{\partial a} = \left\langle \frac{\partial E/T}{\partial a} \right\rangle. \quad (4.4)$$

Besonders einfach gestaltet sich dabei die Berechnung, wenn  $E$  nur linear von  $a$  abhängt, wie dies bei der hier behandelten Problematik für die Biegesteifigkeit  $\kappa$  oder Potentialtiefen  $w$  der Fall ist, oder wenn  $a$  die Temperatur ist.

Sind die Parameter  $a$  jedoch Variablen eingeschränkter freier Energien, für die sich die entsprechenden Zustandssummen nicht in geschlossener Form nach  $a$  ableiten lassen, so kann thermodynamische Integration nicht analytisch durchgeführt werden und numerische Verfahren werden notwendig.

### 4.3 Importance und Umbrella Sampling

Um Aussagen über Verläufe eingeschränkter freier Energien  $F(\mathbf{s})$  machen zu können, müssen offensichtlich alle relevanten Bereiche für  $\mathbf{s}$  während der Simulation erreicht werden. Dies ist jedoch mit dem gewöhnlichen Metropolis-Algorithmus für Konfigurationen mit sehr kleinem statistischen Gewicht  $\exp(-E(\Gamma)/T)$  nicht zu erreichen [126]. Selbiges trifft zu für Bereiche des Konfigurationsraumes, die durch eine Potentialbarriere getrennt sind [127]. Durch Hinzufügen eines geeigneten Hilfspotentials  $E'(\Gamma)$  lassen sich diese Probleme umgehen. Es gilt nämlich für eine Observable  $A$  und deren Mittelwert

$$\begin{aligned} \langle A \rangle_E &= \frac{\int \exp\left(-\frac{E+E'}{T}\right) \exp\left(\frac{E'}{T}\right) A d\Gamma}{\int \exp\left(-\frac{E+E'}{T}\right) \exp\left(\frac{E'}{T}\right) d\Gamma} \\ &= \frac{\left\langle \exp\left(\frac{E'}{T}\right) A \right\rangle_{E+E'}}{\left\langle \exp\left(\frac{E'}{T}\right) \right\rangle_{E+E'}}, \end{aligned}$$

wobei an der rechten Mittelwertklammer die zu berücksichtigende Konfigurationsenergie angegeben ist [126]. Im Falle einer Potentialbarriere wird das eben beschriebene *Importance Sampling* auch *Umbrella Sampling* genannt [127]. Im speziellen kann  $A$  auch eine Funktion der Teilchenkoordinaten sein, die in bestimmten Fällen Eins ist und sonst verschwindet. Dies ermöglicht die Berechnung von Aufenthaltswahrscheinlichkeiten und eingeschränkten Zustandssummen.

### 4.4 Bekannte Histogrammethode

Wie unmittelbar aus der Definition der eingeschränkten freien Energie (Gleichung (4.2)) ersichtlich ist, ist die Wahrscheinlichkeit  $p(\mathbf{s})$ , ein System im thermodynamischen Gleichgewicht mit beobachtbaren Observablen  $\mathbf{s}$  vorzufinden, durch

$$p(\mathbf{s}) = p_0 \exp\left(-\frac{F(\mathbf{s})}{T}\right) \quad (4.5)$$

mit einer Normierungskonstante  $p_0$  gegeben, so daß aus der Kenntnis von  $p(\mathbf{s})$  bzw. entsprechenden relativen Häufigkeiten aus Histogrammen die eingeschränkte freie Energie  $F(\mathbf{s})$  berechnet werden kann.

Im allgemeinen wird für hochdimensionale Konfigurationsräume – trotz Anwendung von *Importance Sampling* Methoden – keine ausreichende Berücksichtigung aller relevanten Bereiche des Konfigurationsraums möglich sein [128]. Dieses Problem läßt sich umgehen, indem man getrennte Simulationsverläufe auf kleine Intervalle für  $\mathbf{s}$  einschränkt. In den Intervallen, die sich typischerweise überlappen, werden Histogramme für  $\mathbf{s}$  erzeugt, die anschließend so gewichtet werden, daß sich eine optimale Schätzung für  $F(\mathbf{s})$  ergibt [129, 130, 131, 118]. Dieser von Ferrenberg und Swendsen entwickelte Algorithmus findet sich in der Literatur unter dem Namen *Weighted Histogram Analyses Method* (WHAM).

Das oben berechnete Freie-Energie-Profil kann im folgenden als Hilfspotential für *Importance Sampling* verwendet werden, das schließlich zur neuerlichen Berechnung der freien Energie genutzt werden kann. Ein solches iteratives Verfahren wurde von Bartels und Karplus zur Analyse von Peptid-Konformationen angewendet [132].

## 4.5 In dieser Arbeit neuentwickelte Histogrammmethoden

Im folgenden zeigt sich, daß es mitunter schwierig ist, den Bereich  $\mathcal{S}$  für die Parameter  $\mathbf{s}$  in eine vernünftige Anzahl von **überlappenden** Teilbereichen aufzuteilen, um dort den WHAM-Algorithmus anzuwenden. Dies kann einerseits durch eine sehr große Anzahl von Freiheitsgraden bedingt sein und/oder andererseits durch die Tatsache, daß die Monte-Carlo-Trajektorie bereits eine erhebliche Mindestanzahl von Schritten umfassen muß, um jedes Histogramm-Intervall zumindest einmal zu erreichen. Letzteres ist insbesondere bei triangulierten Vesikeln mit den Schwerpunktkoordinaten als Parametern der Fall.

Können also keine Histogramme für überlappende Teilbereiche von  $\mathcal{S}$  in den Simulationen erzeugt werden, so bleibt schließlich noch – als neues Verfahren – die Möglichkeit, die eingeschränkte freie Energie  $F(\mathbf{s})$  als glatt und nicht oszillierend anzunehmen, die verallgemeinerten Kräfte

$$\mathbf{f}(\mathbf{s}) = -\nabla_{\mathbf{s}}F(\mathbf{s}) \quad (4.6)$$

an geeigneten Stützstellen zu berechnen und anschließend aufzuintegrieren. In Abbildung 4.1 ist diese Situation veranschaulicht.

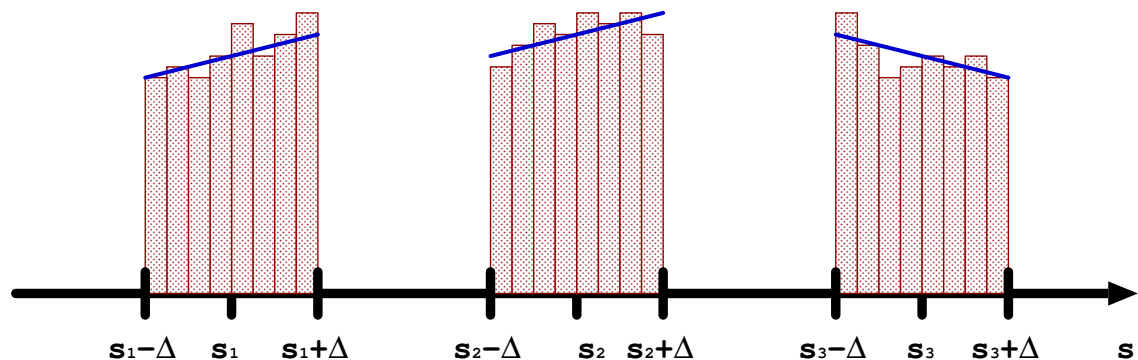


Abbildung 4.1: Lokale Berechnung der eingeschränkten Freien-Energie-Profile in Abhängigkeit vom Parameter  $s$  in der Umgebung  $-\Delta \leq s - s_i \leq \Delta$  der Stützstellen  $s_i$ : In rot sind die mit Hilfe der Monte-Carlo-Simulationen ermittelten Histogramme für  $s$  innerhalb der kleinen, nichtüberlappenden Fenster schematisch dargestellt. Die blauen Linien deuten die lokalen linearen Approximationen der freien Energie an, wobei noch willkürliche Offsets verwendet wurden. Schließlich liefern die Anstiege der Approximationen, mit  $-1$  multipliziert, die gesuchten verallgemeinerten Kräfte.

### 4.5.1 Berechnung verallgemeinerter Kräfte

Eine lokale Berechnung einer verallgemeinerten Kraft  $f$  in bezug auf einen Parameter  $s$  läßt sich wie folgt realisieren.

Zur Vereinfachung der mathematischen Ausdrücke liege die Stützstelle bei  $s = 0$ . Um ein möglichst verlässliches Histogramm in der Monte-Carlo-Simulation zu erzeugen, darf sich der Parameter  $s$  nur in einem kleinen Fenster  $-\Delta \leq s \leq \Delta$  bewegen, wobei  $\Delta$  so klein zu wählen ist, daß

$$\max_{s': s-\Delta \leq s' \leq s+\Delta} \left| \frac{F(s') - F(s)}{T} \right| \lesssim 1 \quad (4.7)$$

gilt und damit die eingeschränkte freie Energie linear approximiert werden kann

$$\frac{F(s)}{T} = a_0 + as. \quad (4.8)$$

Hieraus ergibt sich eine Wahrscheinlichkeitsdichte

$$p[a](s) = \frac{a \exp(-as)}{2 \sinh(a\Delta)} \quad (4.9)$$

für den Parameter  $s$  mit  $-\Delta \leq s \leq \Delta$ , die unabhängig von  $a_0$  ist. Das Histogramm für  $s$  habe  $N_{bins}$  Histogramm-Kästen, die durch

$$b_i = \left\{ s : \left( \frac{2i}{N_{bins}} - 1 \right) \Delta \leq s \leq \left( \frac{2(i+1)}{N_{bins}} - 1 \right) \Delta \right\} \quad 0 \leq i \leq N_{bins} - 1$$

gegeben sind. Ferner seien

$$c_i = \left( \frac{2i+1}{N_{bins}} - 1 \right) \Delta$$

die Mittelpunkte dieser Kästen,  $h_i$  die Anzahlen der insgesamt  $n_{sample}$  Einträge während der Simulation (ein Eintrag pro Monte-Carlo-Schritt) in diese Kästen und  $p_i$  die entsprechenden relativen Häufigkeiten. Die durch das Histogramm beschriebene Häufigkeitsverteilung soll im folgenden an die durch Gleichung (4.9) gegebenen Kurven angepaßt werden. Um besonders große und kleine relative Häufigkeiten adäquat zu berücksichtigen, bietet sich eine Minimierung des Ausdrucks

$$\psi(a) \equiv \sum_{i=0}^{N_{bins}-1} (-\ln p_i + \ln p[a](c_i))^2 \quad (4.10)$$

an. Kürzt man etwa  $-\ln\left(\frac{2}{a} \sinh(a\Delta)\right)$  mit  $g(a)$  ab, so ergibt sich

$$\frac{d\psi}{da} \sim \left( - \sum_{i=0}^{N_{bins}-1} (c_i \ln p_i) + a \sum_{i=0}^{N_{bins}-1} c_i^2 - g'(a) \sum_{i=0}^{N_{bins}-1} \ln p_i + N_{bins} g(a) g'(a) \right) = 0. \quad (4.11)$$

Diese Gleichung müßte numerisch nach  $a$  aufgelöst werden. Im Falle hinreichend guter Statistik, das heißt  $p_i \approx p[a](c_i)$ , verschwindet die Summe der beiden letzten Terme, und man erhält

$$a_{est} = \frac{3}{\Delta (N_{bins}^2 - 1)} \sum_{i=0}^{N_{bins}-1} \{ (\ln p_i) (2i + 1 - N_{bins}) \} \quad (4.12)$$

als Schätzer<sup>1</sup> für den Parameter  $a$  der Wahrscheinlichkeitsdichte  $p$  von  $s$  und damit als Schätzer für die verallgemeinerte Kraft

$$f(s) = -\frac{\partial F}{\partial s} = -aT. \quad (4.13)$$

<sup>1</sup>Die Konsistenz des Schätzers läßt sich auch in mathematischer Strenge verifizieren. Siehe hierzu Anhang B.



Eine Abschätzung der Fehler für  $a$  aus mittels Simulationen erstellter Histogramme läßt sich prinzipiell durch Efrons *Bootstrap* Verfahren [133, 134, 135] erreichen.

#### 4.5.2 Freie-Energie-Profile aus verallgemeinerten Kräften

Während bei nur einem vorgegebenen Parameter  $s$  die Integration der geschätzten verallgemeinerten Kraft  $f_{est}(s)$  unmittelbar auf die eingeschränkte freie Energie  $F(s)$  führt, ergibt sich aus Monte-Carlo-Simulationen mit mehreren Parametern  $\mathbf{s}$  im allgemeinen ein Kraftfeld  $\mathbf{f}_{est}(\mathbf{s})$ , das sich nicht wegunabhängig aufintegrieren läßt. Es ist also ein Optimalitätskriterium hinsichtlich eines zu schätzenden Freie-Energie-Verlaufs anzugeben. Um dieses jedoch formulieren zu können, sollen zunächst einige Vorbetrachtungen folgen.

Im allgemeinen werden eingeschränkte freie Energien weder periodisch noch absolut integrierbar sein, so daß sie weder als Fourier-Reihe noch als Fourier-Integral dargestellt werden können. Nimmt man an, daß die Stützstellen lediglich ein endliches orthogonales Gitter in  $m$  Dimensionen bilden, so läßt sich die eingeschränkte freie Energie periodisch fortsetzen und als Fourier-Reihe darstellen. Da dies Unstetigkeiten an den Gitterenden mit sich bringt, kann man die verallgemeinerte Kraft nicht durch gliedweise Differentiation der Fourier-Reihe für die freie Energie erhalten. Dies läßt sich aber durch eine Spiegelung des Freien-Energie-Profiles an den Ebenen  $s_\mu = \min \{s_\mu : \mathbf{s} \in \mathcal{S}\}$ ,  $1 \leq \mu \leq m$ , und anschließend durchzuführender periodischer Fortsetzung der eingeschränkten freien Energie erreichen, die nun stetig und stückweise stetig differenzierbar ist.

Sei  $m_\mu$  die Anzahl äquidistanter Stützstellen<sup>2</sup>

$$s_\mu^{(j)} = \frac{j}{m_\mu} U_\mu + s_\mu^{(0)}, \quad j = 0, \dots, m_\mu - 1, \quad (4.14)$$

in bezug auf den Parameter  $s_\mu$ , wobei  $U_\mu$  die Länge des Bereichs  $\mathcal{S}$  in Richtung  $s_\mu$  ist. Weiterhin sei die Matrix  $\mathbf{U}$  definiert durch  $U_{\mu,\nu} = U_\mu \delta_{\mu,\nu}$ .

Damit ergibt sich für die eingeschränkte freie Energie

$$F(\mathbf{s}) = \sum_{\mathbf{k}} \exp(i\mathbf{k} \cdot \mathbf{U}^{-1} \cdot \mathbf{s}) c(\mathbf{k}) \quad (4.15)$$

mit  $0 \leq k_\mu \leq m_\mu - 1$  und den gesuchten Entwicklungskoeffizienten  $c(\mathbf{k})$  sowie für die verallgemeinerte Kraft

$$f_\mu(\mathbf{s}) := -\frac{\partial F}{\partial s_\mu} = -i \sum_{\mathbf{k}} \exp(i\mathbf{k} \cdot \mathbf{s}) c(\mathbf{k}) \frac{k_\mu}{U_\mu}. \quad (4.16)$$

Auf Grund von Fluktuationen haben die lokal geschätzten verallgemeinerten Kräfte  $\mathbf{f}_{est,loc}(\mathbf{s})$  aus den Monte-Carlo-Simulationen zufällige Abweichungen von der exakten Lösung. Diese geschätzten Kräfte sollen nun an ein Kraftfeld der Form wie in Gleichung (4.16) angepaßt werden, welches die allgemeine Form hat, die auf eine periodische eingeschränkte freie Energie führt. Hieraus wird sich schließlich das gesuchte Energieprofil ergeben. Sei  $\tilde{g}$  die Fourier-Transformierte einer Funktion  $g$  im Ortsraum,  $G$  das (endliche) Gitter der Stützstellen und  $G'$  das entsprechende reziproke Gitter. Wegen

$$\sum_{\mathbf{k} \in G'} |\tilde{g}(\mathbf{k}) - \tilde{g}(\mathbf{k})|^2 = \frac{1}{C} \sum_{\mathbf{s} \in G} |g_1(\mathbf{s}) - g_2(\mathbf{s})|^2 \quad (4.17)$$

für beliebige reellwertige Funktionen  $g_1, g_2$  auf  $G$  mit einer Normierungskonstanten  $C$  (Parsevalsche Gleichung) liefert der Kleinste-Quadrate-Schätzer (siehe etwa Pestman [136],

<sup>2</sup>Im folgenden ist  $i$  die imaginäre Einheit.

Abkürzung  $LS$ )

$$\sum_{\mathbf{k}} \left| \mathbf{U} \cdot \tilde{\mathbf{f}}_{LS}(\mathbf{k}) - \mathbf{U} \cdot \tilde{\mathbf{f}}_{est,loc}(\mathbf{k}) \right|^2 \stackrel{!}{=} \min \quad (4.18)$$

für die verallgemeinerte Kraft im Fourier- und im Ortsraum dasselbe Resultat. Minimierung in bezug auf sämtliche  $c(\mathbf{k})$  ergibt schließlich

$$c_{LS}(\mathbf{k}) = i \frac{\mathbf{k} \cdot \mathbf{U} \cdot \tilde{\mathbf{f}}_{est,loc}(\mathbf{k})}{\mathbf{k} \cdot \mathbf{k}} \quad (4.19)$$

für  $|\mathbf{k}| \neq 0$ . Das Absolutglied  $c_{LS}(\mathbf{o})$  ist ein willkürlicher Offset bei der freien Energie. Besonders anhand der letzten Gleichung ist die Notwendigkeit der Einführung der Einheitenmatrix  $\mathbf{U}$  zu erkennen, denn ohne diese Matrix hätten die Summanden im Zähler nicht dieselbe Einheit. Diese ist jetzt in allen Fällen die Energie.

Offensichtlich erfüllt der in Gleichung (4.19) genannte Schätzer die gewünschte Konsistenz, das heißt, ersetzt man die geschätzten verallgemeinerten Kräfte  $\tilde{\mathbf{f}}_{est,loc}$  durch die tatsächlichen Kräfte, so ergeben sich wieder die tatsächlichen Fourier-Koeffizienten  $c(\mathbf{k})$ . Es ist allerdings festzustellen, daß kleine Differenzen in der eingeschränkten freien Energie bezüglich des einen Parameters durch statistische Fehler bezüglich eines zweiten signifikant überlagert werden können.

Um hochfrequentes Rauschen zu unterdrücken, können in Gleichung (4.19) Filter  $\Theta(k)$  hinzugefügt werden. Bei Potentialen mit großen Gradienten führt dies aber gleichzeitig zu einer Verfälschung der Ergebnisse.

Abschließend sei hier festgestellt, daß der eben beschriebene Schätzer nicht *a priori* der einzige konsistente Schätzer ist. Er vermeidet jedoch – dank der Parsevalschen Gleichung – die Frage, ob das zugrunde liegende Optimalitätskriterium im Orts- oder Fourier-Raum zu formulieren ist.

Zur automatisierten Ermittlung der (mehrkomponentigen) verallgemeinerten Kräfte an den verschiedenen Stützstellen bietet sich der Backtracking-Algorithmus [137] an, der ermöglicht, aus energetischen Gründen unzugängliche Bereiche auszusparen.

# Kapitel 5

## Asphärizität fluider Vesikeln

Bei endlichen Temperaturen fluktuieren Vesikeln um eine mittlere Form. Im Grenzfall tiefer Temperaturen oder großer Biegesteifigkeiten hingegen verschwinden diese Fluktuationen, und die Vesikel nimmt eine Form minimaler Konfigurationsenergie an. Ohne Nebenbedingung für das Volumen ist dies für freie Vesikeln eine Kugel. Dies führt zu der Annahme, daß die Kugelform auch die wahrscheinlichste Form für endliche Temperaturen ist. Es wäre somit eine Kraft aufzubringen, um die Vesikel aus dieser Form in eine anisotrope zu deformieren. Im folgenden wird gezeigt, daß diese Annahmen nicht zutreffen und statt dessen bei endlichen Temperaturen prolate und oblate Formen wahrscheinlicher sind, wobei die Wahrscheinlichkeit für eine prolate Form etwas größer ist als für eine oblate. Bei größeren Deformationen ergibt sich das erwartete Verhalten für Vesikeln.

Unter der Annahme großer Biegesteifigkeiten kann die entropische Asphärizität fluider Vesikeln vernachlässigt und eine effektive Biegesteifigkeit für Deformationen auf der Längenskala der Vesikel eingeführt werden.

### 5.1 Definition der Asphärizität

Erste Untersuchungen der Anisotropie von Polymeren gehen auf Šolc [138] zurück. Rudnick und Gaspari [139] definierten eine verallgemeinerte Asphärizität in  $m$  Dimensionen

$$\langle d_m \rangle \equiv \frac{\sum_{i>j} \langle (e_i - e_j)^2 \rangle}{(m-1) \langle (\sum_i e_i)^2 \rangle}, \quad (5.1)$$

wobei  $e_i$ ,  $1 \leq i \leq m$ , die Eigenwerte des verallgemeinerten Trägheitstensors (siehe [139]) sind. Diese wurde bei Polymeren von Diehl und Eisenriegler [140] analytisch für kleine Werte  $m$  untersucht. Die Ergebnisse stimmen mit den numerischen Werten von Bishop und Saltiel [141] überein. Noguchi und Gompper [142] untersuchten die Asphärizität von dreidimensionalen Vesikeln in Scherströmungen, wobei auf die Mittelwertbildung in Gleichung (5.1) verzichtet wurde.

Für Asphärizität  $d_3$  gilt stets  $d_3 \geq 0$ . Im Grenzfall maximal prolater Gebilde ergibt sich der Wert Eins, für den Grenfall maximal oblater Gebilde  $1/4$  und für sphärische Gebilde Null. Es sei jedoch erwähnt, daß auch Objekte mit Tetraeder- bzw. Würfelsymmetrie eine verschwindende Asphärizität  $d_3$  besitzen.

Da sich bei einer zeitlichen Veränderung der Form des betrachteten dreidimensionalen Objekts sämtliche Teilchenkoordinaten nur stetig ändern, gilt dies auch für den Trägheitstensor und dessen Eigenwerte sowie für die Asphärizität  $d_3$ . Eine Deformation eines anfänglich stark prolater Rotationsellipsoides in ein stark oblates unter Beibehaltung der Rotationssymmetrie durchläuft folglich die Asphärizitäten  $0 \leq d_3 \leq 1/4$  mit prolater

und oblaten Konfigurationen. Zu diesen Asphärizitäten gehören also sowohl prolate als auch oblate Konfigurationen, so daß anhand der Kenntnis von  $d_3$  nicht zwischen prolaten und oblaten Formen unterschieden werden kann.

Eine Möglichkeit, dieses Problem zu umgehen, besteht in folgender Definition der Asphärizität

$$d \equiv 1 - 2 \frac{e_3}{e_1 + e_2}, \quad (5.2)$$

wobei die Eigenwerte  $e_i$  des Trägheitstensors so numeriert wurden, daß  $|e_1 - e_2| \leq |e_i - e_j|$  für alle  $i \neq j$  gilt.

Die auf diese Weise erhaltene Möglichkeit, prolate von oblaten Formen unterscheiden zu können, erlaubt unstetige Änderungen der Asphärizität, denn es ist möglich, ein anfangs oblates Rotationsellipsoid biaxial in ein prolates zu überführen, ohne zwischenzeitlich eine Kugelschale bzw. eine andere Fläche verschwindender Asphärizität zu erzeugen. Wählt man zum Beispiel  $e_1 = 4$ ,  $e_2 = 5 + \epsilon$  und  $e_3 = 6$  und ändert  $\epsilon$  stetig um Null, so ist ein Sprung in  $d$  von  $-\frac{1}{3}$  auf  $\frac{3}{11}$  bei  $\epsilon = 0$  zu beobachten, der mit einem Wechsel von einer oblaten zu einer prolates Form verbunden ist.

## 5.2 Realisierung als Computer-Experiment

Die betrachtete Vesikel wird durch eine triangulierte Fläche wie in Kapitel 3 beschrieben. Als Funktion des Trägheitstensors läßt sich die Asphärizität auf Größen zurückführen, die sich mit Hilfe des Gaußschen Integralsatzes als Summe von Beiträgen der einzelnen Dreiecke schreiben läßt. Im folgenden werden zur Bestimmung der Wahrscheinlichkeitsdichte  $p(d)$ , eine Vesikel mit einer Asphärizität  $d$  zu beobachten, Monte-Carlo-Simulationen durchgeführt.

Bei Monte-Carlo-Simulationen der freien Vesikel zeigt sich, daß sich die Monte-Carlo-Trajektorie nur in Bereichen des Konfigurationsraums mit  $d \simeq \pm 0.05$  aufhält und zwischen diesen unstetig wechselt. Eine Erzeugung von Histogrammen bezüglich  $d$  und eine damit verbundene Berechnung von  $p(d)$  und der eingeschränkten freien Energie  $F(d)$  ist auf diese Weise nicht möglich.

Durch den in Abschnitt 4.5 beschriebenen Algorithmus kann dieses Problem gelöst werden. Schränkt man durch ein Kastenpotential die Asphärizität  $d$  auf einen kleinen Bereich ein, so kann man dort die verallgemeinerte Kraft  $f(d) = -\frac{\partial F}{\partial d}$  messen und aufintegrieren.

In den durchgeführten Simulationen wurden drei verschiedene Typen von Monte-Carlo-Schritten berücksichtigt: Unabhängige Bewegung einzelner Vertices mit 39%, *Bond Flips* mit 59% und einachsige Deformationen mit 2% Anteil an der Gesamtzahl der Monte-Carlo-Schritte.

## 5.3 Simulationsergebnisse

Die globalen elastischen Eigenschaften hängen sehr von der Biegesteifigkeit  $\kappa$  ab und vom osmotischen Druck, der auf die Vesikel wirkt. Im folgenden wird der Einfluß dieser beiden Parameter auf die mittlere Vesikeldeformation separat untersucht. Sämtliche Energien sind in Einheiten von  $T$  gegeben und die Längen in Einheiten von  $R_0$ .

### 5.3.1 Ohne osmotisch aktiven Substanzen

Bei verschwindender Temperatur ist die Vesikeloberfläche mit minimaler Konfigurationsenergie durch eine Sphäre gegeben. Da diese minimale Konfigurationsenergie eine glatte

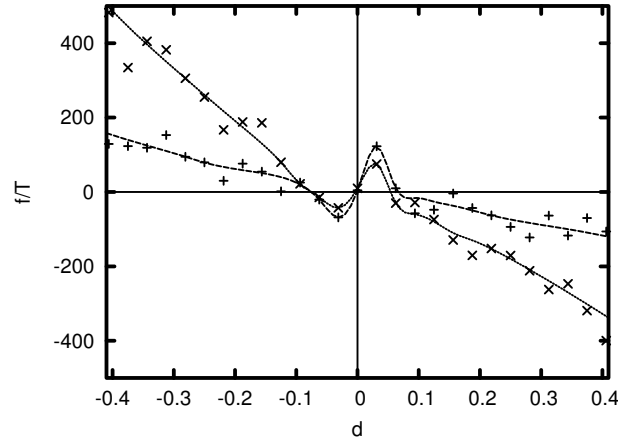


Abbildung 5.1: Die verallgemeinerte Kraft  $f(d) = -\frac{\partial F}{\partial d}$  in Einheiten der thermischen Energie für Biegesteifigkeiten  $\kappa = 10T$  (+) und  $\kappa = 30T$  (×). Die Linien dienen der Veranschaulichung.

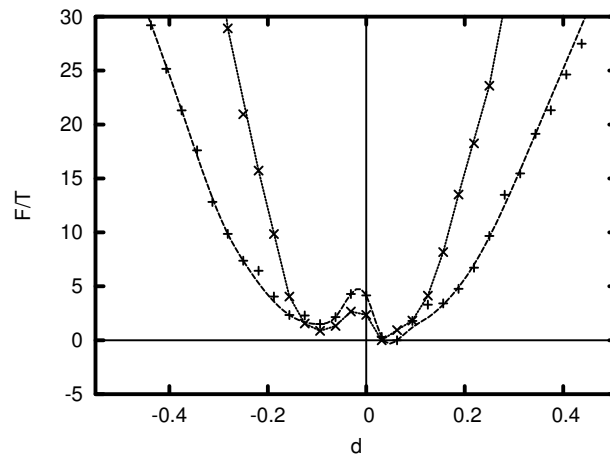


Abbildung 5.2: Die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  in Einheiten der thermischen Energie für Biegesteifigkeiten  $\kappa = 10T$  (+) und  $\kappa = 30T$  (×). Die Linien dienen der Veranschaulichung.

Funktion der Deformation  $d$  ist, kann sie um  $d = 0$  für sphärische Formen entwickelt werden. Es ergibt sich eine verallgemeinerte Kraft

$$f_{el}(d) = -\frac{\partial F}{\partial d} \sim d \quad (5.3)$$

für kleine Werte  $d$ . Im allgemeinen wird angenommen, daß diese Relation auch bei endlichen Temperaturen gilt.

Diese verallgemeinerte Kraft wurde in Monte-Carlo-Simulationen gemessen und in Abbildung 5.1 dargestellt. Für  $0.2 \lesssim |d| \lesssim 0.5$  sind die verallgemeinerten Kräfte  $f_{el}(d)$  ungefähr proportional zu  $d$ , aber für  $|d| < 0.2$  ergibt sich ein überraschendes Verhalten. Bei  $d \simeq \pm 0.1$  verschwinden die Kräfte mit  $\frac{\partial f}{\partial d} < 0$ . Weiterhin ist  $f(d=0) = 0$  mit  $\frac{\partial f}{\partial d} > 0$ . Das heißt, bei  $d \simeq \pm 0.1$  liegen lokale Minima der eingeschränkten freien Energie  $F(d)$  vor und bei  $d = 0$  ein lokales Maximum (Abbildung 5.2). Folglich tendieren fluide Vesikeln dazu, eher prolat oder oblat mit Asphärizitäten  $d \simeq \pm 0.1$  zu sein, als sphärische Formen anzunehmen. Die Integration der Kräfte deutet darauf hin, daß das lokale Minimum bei  $d \simeq 0.1$  ein wenig tiefer ist als jenes bei  $d \simeq -0.1$ . Die Vesikeln sind somit tendentiell eher prolat.

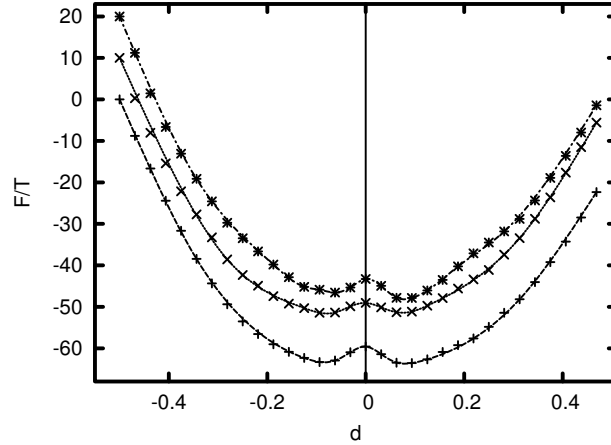


Abbildung 5.3: Die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  in Einheiten der thermischen Energie (mit willkürlichem Offset) für  $\kappa = 15T$  und verschiedene Vertexanzahlen  $N_e = 300$  (+),  $N_e = 400$  (x) und  $N_e = 500$  (\*).

Dieser Effekt hängt nicht von der Anzahl  $N_e$  der Vertices in der Triangulierung ab (siehe Abbildung 5.3).

### 5.3.2 Berücksichtigung osmotischer Drücke

In Anwesenheit osmotisch aktiver Teilchen wirkt ein osmotischer Druck

$$P_{osm} = c_{ex}T \left( \frac{V_{osm}}{V} - 1 \right) \quad (5.4)$$

auf die Vesikel, der für  $V = V_{osm} = N/c_{ex}$  verschwindet. Für eine Vesikel mit der Oberfläche  $A = 4\pi R_0^2$  kann das eingeschlossene Volumen nicht größer sein als  $V = V_{max} = \frac{4\pi}{3}R_0^3$ , was dem Volumen einer Kugel mit Radius  $R_0$  entspricht. Für  $V_{osm} < V_{max}$  werden durch den osmotischen Druck anisotrope Formen bevorzugt und für  $V_{osm} > V_{max}$  Formen mit geringer Anisotropie. Mit steigender Anzahl  $N$  osmotisch aktiver Teilchen im Vesikelinneren und konstantem  $V_{osm}$ , also  $N \sim c_{ex}$ , nähert sich das Vesikelvolumen  $V_{osm}$  an.

In Abbildung 5.4 wurde die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  für  $V_{osm}/V_{max} = 0.8, 1.2$  und  $2.4$  dargestellt. Für  $V_{osm}/V_{max} = 0.8$  findet man lokale Minima bei  $d \simeq \pm 0.5$  mit typischen Konfigurationen wie in Abbildung 5.5 dargestellt. Für  $V_{osm}/V_{max} = 2.4$  gibt es entsprechend obigen Überlegungen ein Minimum bei  $d \simeq 0$ . Minima bei  $d \simeq \pm 0.05$  findet man für  $V_{osm}/V_{max} = 1.2$ . In diesem Fall kann die entropieinduzierte Asphärizität nicht durch Biegesteifigkeit und osmotischen Druck kompensiert werden, die  $d \simeq 0$  bevorzugen.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß eine Vesikel nur dann eine exakt sphärische Form besitzt, wenn sie durch einen hinreichend großen osmotischen Druck stabilisiert wird. Andernfalls ergeben sich bei endlichen Temperaturen schwach prolata oder oblate Formen.

### 5.3.3 Einfluß des Gravitationsfeldes

In vielen Experimenten mit Vesikeln kann der Einfluß des als homogen angenommenen Schwerfeldes nicht vernachlässigt werden. Daher ist eine Untersuchung des Einflusses der Schwerkraft auf die Asphärizität von Vesikelformen von Interesse.

Im folgenden sei eine fluide Vesikel an einer harten Wand bei  $z = 0$  unter Einfluß des homogenen Schwerfeldes mit dem Energiebeitrag

$$E_{gravi} = \bar{g}Ab_z \quad (5.5)$$

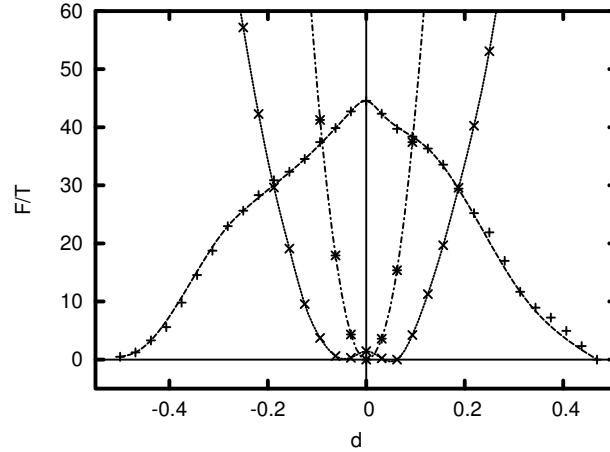


Abbildung 5.4: Die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  in Einheiten der thermischen Energie für  $N = 10000$  und  $V_{osm}/V_{max} = 0.8$  (+),  $N = 15000$  und  $V_{osm}/V_{max} = 1.2$  (×) sowie  $N = 30000$  und  $V_{osm}/V_{max} = 2.4$  (\*).

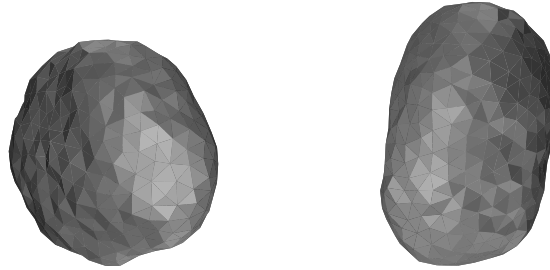


Abbildung 5.5: Typische Konfigurationen für  $d = -0.5$  (links) und  $d = 0.47$  (rechts) mit  $N = 10000$ ,  $c_{ex} = 3000 R_0^{-3}$  und  $\kappa = 15 T$ .

betrachtet. Dabei bezeichne  $b_z$  die  $z$ -Koordinate des Schwerpunkts der Vesikelmembran und  $\bar{g}_A$  die auf das Volumen der Vesikelmembran normierte Feldstärke des Schwerfelds. Die Vesikelmembran wird hierzu als dünn und mit konstanter räumlich homogener Massendichte angenommen. Ein Einfluß osmotisch aktiver Teilchen soll an dieser Stelle außer Acht bleiben.

Für den kleinen Wert  $\bar{g} = 5 T/R_0$  erhält man ein globales Minimum für  $F(d)$  bei  $d \simeq 0.1$  (siehe Abbildung 5.6), was einer prolates Vesikel entspricht. Dieses Ergebnis stimmt mit Berechnungen von Kraus et al. [96] für den stationären Fall für ein reduziertes Volumen  $v \simeq 0.8$  überein. Dort wurde im Gegensatz zu Gleichung (5.5) angenommen, daß die Schwerkraft auf das Vesikelvolumen wirkt. Für große Feldstärken  $\bar{g} = 500 T/R_0$  liegt das globale Minimum bei  $d \simeq -0.5$ , und es ergeben sich bevorzugt oblate Formen.

## 5.4 Ein Minimalmodell für drei Dimensionen

Die Ergebnisse aus Abschnitt 5.3.1 legen die Annahme nahe, daß die Asphärizität fluider Vesikeln ein entropischer Effekt ist. Dies soll im folgenden durch ein sehr vereinfachtes Modell untersucht werden, in dem alle Freiheitsgrade fehlen bis auf die niedrigsten Fluktuationsmoden in den drei räumlichen Dimensionen.

Seien hierzu sechs Massenpunkte gleicher Masse betrachtet, die sich auf den paarweise zu einander senkrechten Koordinatenachsen befinden. Die Abstände  $L_i$  der Massenpunkte vom Ursprung seien für die jeweils zwei Punkte je Achse gleich (siehe Abbildung 5.7). Diese

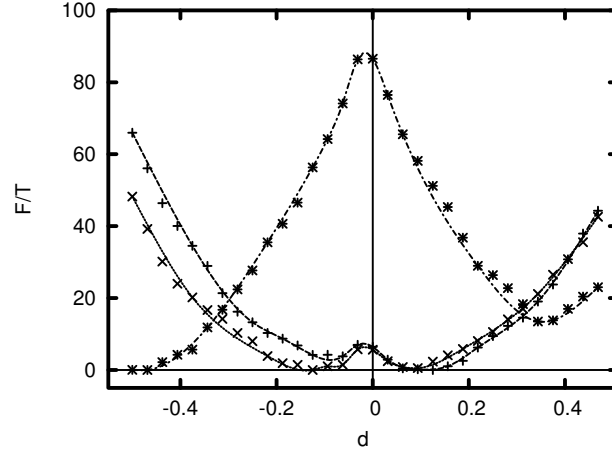


Abbildung 5.6: Die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  in Einheiten der thermischen Energie für  $\kappa = 15T$  und homogene Schwerfelder unterschiedlicher Feldstärke:  $\bar{g} = 5T/R_0$  (+),  $\bar{g} = 50T/R_0$  (x) und  $\bar{g} = 500T/R_0$  (\*).

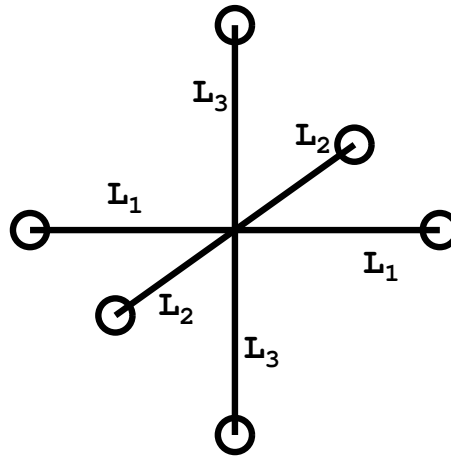


Abbildung 5.7: *Crossed Dumbbells* Modell in drei Dimensionen. Beschreibung im Text.

Anordnung von sechs Massenpunkten bildet drei *Crossed Dumbbells*, deren Schwerpunkt stets im Ursprung liegt. Die Werte  $L_i$  sind dabei unabhängig identisch verteilt mit einer Wahrscheinlichkeitsdichte  $q$  mit  $q(x) = 0$  für  $x \leq 0$ , die um  $x = 1$  mit einer Halbwertsbreite  $\lambda$  zentriert ist.

Setzt man  $a_i \equiv L_i^2$ , so ergibt sich für den Trägheitstensor (bis auf einen konstanten Faktor)

$$\mathcal{I} = \begin{pmatrix} a_2 + a_3 & 0 & 0 \\ 0 & a_1 + a_3 & 0 \\ 0 & 0 & a_1 + a_2 \end{pmatrix}. \quad (5.6)$$

Offensichtlich gilt  $|e_i - e_j| = |a_i - a_j|$ . Aus Symmetriegründen kann man sich im folgenden auf den Fall  $0 \leq a_1 \leq a_2 \leq a_3$  beschränken. Die anderen Fälle ergeben sich aus Permutationen und liefern somit einen zusätzlichen Faktor Sechs in der Zustandssumme. Wie in Anhang C gezeigt wird, ist die Wahrscheinlichkeitsdichte  $p(d)$  gegeben durch

$$p(d) \approx p_0 \frac{|d|(3-2d)}{(3-d)^2(1-d)^2} \quad \text{für } d \ll \lambda \quad (5.7)$$

mit einer Normierungskonstanten  $p_0$ , die von  $q$  abhängt. Eine Beschränkung auf fast isotrope Konfigurationen mit sehr kleinen Werten  $d$  liefert folgende Taylor-Approximation



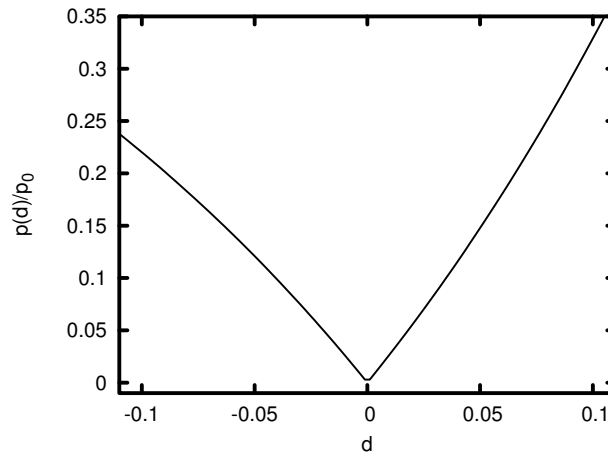


Abbildung 5.8: Wahrscheinlichkeitsdichte  $p(d)$  aus Gleichung (5.7) für den Deformationsparameter  $d$ .

von  $p(d)$  um  $d = 0$

$$p(d) \approx \frac{p_0}{4} |d|. \quad (5.8)$$

Offensichtlich verschwindet die Wahrscheinlichkeitsdichte für  $d = 0$  und hat betragsmäßig den gleichen Anstieg für  $d < 0$  und  $d > 0$ . Dem ursprünglichen Ergebnis (5.7) entnimmt man, daß für betragsmäßig größere Werte von  $d$  der prolate Zweig von  $p(d)$  mit  $d > 0$  schneller wächst als der oblate. Dies ist in Abbildung 5.8 veranschaulicht.

Die Wahrscheinlichkeitsdichte  $p(d)$  hängt mit der eingeschränkten freien Energie über die Beziehung

$$F(d) = -T \ln p(d) + F_0 \quad (5.9)$$

zusammen, wobei  $F_0$  ein deformationsunabhängiger Offset ist. Für die verallgemeinerte Kraft ergibt sich hieraus

$$f(d) = -\frac{\partial F}{\partial d} = T \frac{p'(d)}{p(d)} \approx \frac{T}{d}, \quad (5.10)$$

das heißt, die verallgemeinerte Kraft divergiert bei verschwindender Asphärität  $d$ .

Das soeben beschriebene *Crossed Dumbbells* Modell besitzt drei vollständig unabhängige Freiheitsgrade und zeigt kein *Crumpling*. Trotzdem ergibt sich eine spontane Anisotropie, die daher rein entropischen Ursprungs ist. Die beobachtete starke Vermeidung des isotropen Zustands wird durch die Wechselwirkung der Deformationsmoden bei Vesikeln abgeschwächt. Durch einen hinreichend großen osmotischen Druck kann die spontane Anisotropie vollständig unterdrückt werden.

## 5.5 Vergleich mit einem Minimalmodell für zwei Dimensionen

Im vorangegangenen Abschnitt wurde eine spontane Anisotropie für ein einfaches dreidimensionales Modell gezeigt. Es stellt sich daher die Frage, ob sich dieser Effekt auch in zwei Dimensionen finden läßt.

Dazu sei im folgenden ein zweidimensionales Analogon (siehe Abbildung 5.9) zu dem Minimalmodell aus dem vorangegangenen Abschnitt betrachtet.

In zwei Dimensionen läßt sich die Deformation durch das Verhältnis der Wurzeln der Eigenwerte  $a^2$  und  $b^2$  des Trägheitstensors beschreiben. Um ein Deformationsmaß  $d_2$  zu

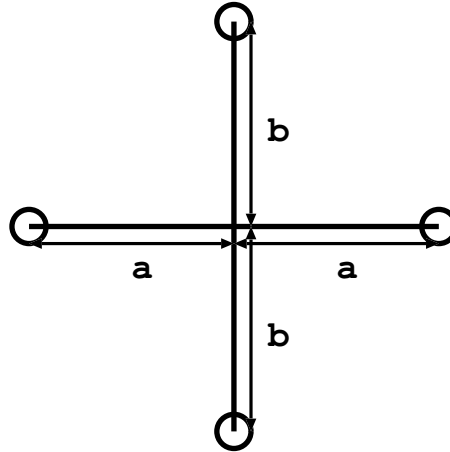


Abbildung 5.9: *Crossed Dumbbells* Modell in zwei Dimensionen. Beschreibung im Text.

erhalten, daß nicht von der Reihenfolge der Eigenwerte abhängt, sei<sup>1</sup>

$$d_2 \equiv \max \left\{ \frac{a}{b}, \frac{b}{a} \right\} \geq 1. \quad (5.11)$$

Ferner sei  $q$  die gemeinsame Wahrscheinlichkeitsdichte für  $a$  und  $b$ . Diese ist auf Grund obiger Definition symmetrisch in ihren Argumenten. Mit  $P$  ist die Verteilungsfunktion von  $d_2$  und mit  $p$  die zugehörige Dichte bezeichnet. Eine Rechnung wie im vorangegangenen Abschnitt liefert

$$P(d_2) = p_0 \int_{b=0}^{\infty} db \left( \int_{a=b}^{bd_2} da q(a, b) \right), \quad (5.12)$$

$$p(d_2) = P'(d_2) = p_0 \int_{b=0}^{\infty} db b q(bd_2, b) \quad (5.13)$$

mit der Normierungskonstanten

$$p_0 = \frac{2}{\int_0^{\infty} da \int_0^{\infty} db q(a, b)}. \quad (5.14)$$

Nimmt man  $q$  als Gauß-verteilt an mit Mittelwert  $(\mu, \mu)$  und Halbwertsbreite  $\lambda$  in  $a = b$ -Richtung, so ergibt sich folgendes intuitives Resultat

$$p(d_2) \approx p_0 (2 - d_2) \quad (5.15)$$

mit einer endlichen Wahrscheinlichkeit für symmetrische Konfigurationen  $d \gtrsim 1$  im Gegensatz zum überraschenden Resultat für drei Dimensionen.

Zwar ist die Annahme einer Gauß-Verteilung für  $q$  nicht die einzig mögliche Wahl, aber es leicht zu sehen, daß  $p(d_2)$  positiv und stetig bei  $d_2 \gtrsim 1$  ist für sinnvoll gewählte Wahrscheinlichkeitsdichten  $q$ .

<sup>1</sup> $d_2$  stimmt nicht mit  $d_m$  aus Gleichung (5.1) für  $m = 2$  überein.

## 5.6 Approximation der Vesikeloberfläche durch ein Ellipsoid

Im Falle großer Biegesteifigkeiten kann die Vesikeloberfläche, die auch hier konstant  $4\pi R_0^2$  groß sein soll, durch ein Ellipsoid mit Ortsvektoren

$$\mathbf{r}(\theta, \phi) = R_0 \begin{pmatrix} (1 + a_1) \cos \phi \sin \theta \\ (1 + a_2) \sin \phi \sin \theta \\ (1 + a_3) \cos \theta \end{pmatrix}, \quad (5.16)$$

den üblichen Kugelkoordinaten  $\theta$  und  $\phi$ ,  $0 \leq \theta \leq \pi$ ,  $0 \leq \phi \leq 2\pi$ , sowie betragsmäßig kleinen Parametern  $a_i$ ,  $i = 1, 2, 3$ , approximiert werden.

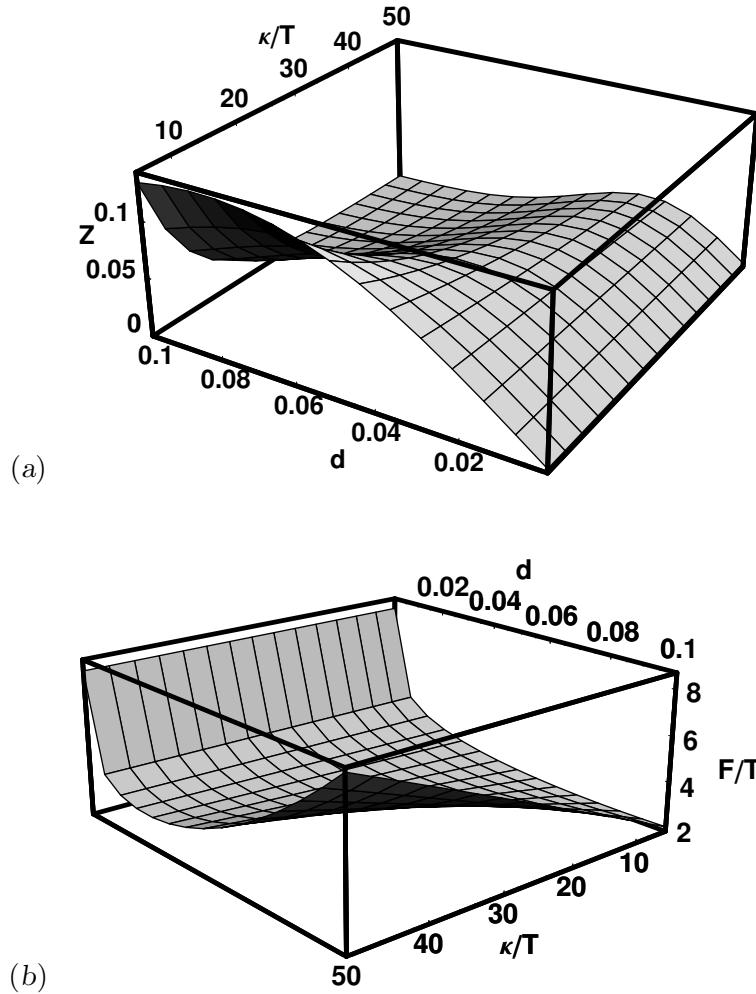


Abbildung 5.10: Eingeschränkte Zustandssumme  $Z(d)$  (a) und eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  (b) als Funktion der Biegesteifigkeit  $\kappa$  und Asphärität  $d$  für eine fluide Vesikel, die auf ellipsoidale Deformationen eingeschränkt ist.

Sei  $g(\theta, \phi)$  die Determinante des Metrikensors. Eine Taylor-Entwicklung bis zum quadratischen Glied von  $\sqrt{g}$  in  $a_i$  liefert für die Vesikeloberfläche

$$\frac{A^{(2)}}{A_0} = 1 + \frac{1}{15} (2a_1 + 2a_2 + 2a_3 + a_1^2 + a_2^2 + a_3^2 + 4a_1a_2 + 4a_1a_3 + 4a_2a_3) \quad (5.17)$$

und für die Biegeenergie

$$E_{el}^{(2)} = 8\pi\kappa + \frac{128\pi\kappa}{15} (a_1^2 + a_2^2 + a_3^2 - a_1a_2 - a_1a_3 - a_2a_3). \quad (5.18)$$

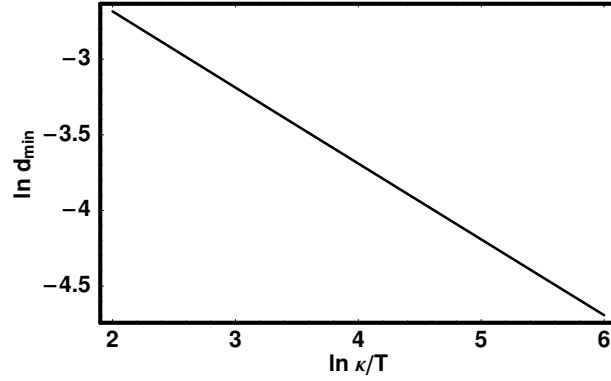


Abbildung 5.11: Asphärizität  $d_{min}$ , die die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  minimiert, in Abhängigkeit von der Biegesteifigkeit  $\kappa$ .

Nimmt man  $A^{(2)}$  als konstant an, so ergibt sich eine Hyperfläche im durch die Parameter  $a_i$  aufgespannten Raum. Durch eine geeignete in Anhang D beschriebene affine Transformation läßt sich eine Approximation für die eingeschränkte Zustandssumme finden

$$Z(d) = \int d\Gamma \exp\left(-\frac{E_{el}}{T}\right) \delta(d'(\Gamma) - d) \quad (5.19)$$

$$\approx 3 \left| \int_{-\frac{\pi}{6} - \Delta\psi_0}^{\frac{\pi}{6} + \Delta\psi_0} r(\psi) \exp\left(-\frac{\kappa}{T} \frac{32\pi}{5} r^2(\psi)\right) \sqrt{1 + r'(\psi)^2} d\psi \right|. \quad (5.20)$$

Dabei ist  $\Delta\psi_0 = \frac{d}{\sqrt{27}}$  und

$$r(\psi) = \sqrt{\frac{2}{3}} \frac{d}{\cos \psi}. \quad (5.21)$$

Die Zustandssumme konvergiert offensichtlich gegen Null im Grenzfall verschwindender Asphärizität  $d$  (siehe Abbildung 5.10(a)). Dies führt wie bereits beim *Crossed Dumbbells* Modell zu einer divergierenden verallgemeinerten Kraft  $f(d)$  und zur Ausbildung je eines lokalen Minimums für die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  bei positiven und negativen Asphärizitäten  $d$ . Dieses Verhalten ist für prolate Formen ( $d > 0$ ) in Abhängigkeit von der Biegesteifigkeit  $\kappa$  in Abbildung 5.10(b) dargestellt. Für die Asphärizität  $d_{min} > 0$ , bei der  $F(d)$  minimal wird, gilt dabei (siehe Abbildung 5.11)

$$d_{min} \approx 0.19 \sqrt{\frac{T}{\kappa}}. \quad (5.22)$$

### Einführung einer effektiven Biegesteifigkeit

Für hinreichend große Biegesteifigkeiten  $\kappa$  und Asphärizitäten  $d$  tragen zum Integral von Gleichung (5.20) lediglich die Deformationen mit den kleinsten Werten  $r$  bei. Dies rechtfertigt folgende gröbere Approximation der Zustandssumme

$$Z(d) \approx 3 \left| \int_{-\infty}^{\infty} \left( r \sqrt{1 + r'^2} \right) \Big|_{\psi=0} \exp\left(-\frac{\kappa}{T} \frac{32\pi}{5} \left(\sqrt{\frac{2}{3}} d\right)^2 (1 + \psi^2)\right) d\psi \right| \quad (5.23)$$

$$\approx \frac{\sqrt{10}}{8} \sqrt{\frac{T}{\kappa}} \exp\left(-\frac{\kappa}{T} \frac{64\pi}{15} d^2\right) \quad (5.24)$$

und ergibt für die eingeschränkte freie Energie

$$F(d) = F_0 + \kappa \frac{64\pi}{15} d^2 \quad (5.25)$$

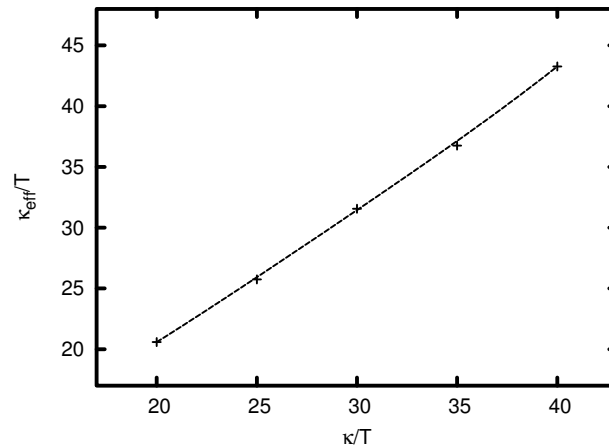


Abbildung 5.12: Effektive Biegesteifigkeit  $\kappa_{eff}$  als Funktion der mikroskopischen Biegesteifigkeit  $\kappa$ .

mit einem Offset  $F_0$ , der nur von der Biegesteifigkeit und der Temperatur abhängt. Dieses Ergebnis erhält man auch, wenn man die Vesikel als Oberfläche konstanten Inhalts und minimaler Konfigurationsenergie annimmt, die sich für große Asphärizitäten durch ein Rotationsellipsoid approximieren läßt (siehe Anhang E).

Im Gegensatz zur Biegesteifigkeit  $\kappa$  in der Canham-Helfrich-Näherung für die elastische Energie einer fluiden Membran (Gleichung (2.1)), die sich auf die Wellenlänge der kleinsten betrachteten Fluktuationsmode bezieht, charakterisiert die Biegesteifigkeit in diesem Abschnitt eine effektive Biegesteifigkeit für Deformationen der gesamten Vesikel. Diese sei fortan zur Unterscheidung von der ersteren mit  $\kappa_{eff}$  bezeichnet. Sie läßt sich aus dem Anstieg der durch Gleichung (5.25) gegebenen verallgemeinerten Kraft  $f(d)$  bestimmen, die für moderate Deformationen – etwa  $|d| < 0.5$  – proportional zu  $d$  ist. Dazu werden die Meßkurven aus Abbildung 5.1 im Bereich der Gültigkeit der in diesem Unterabschnitt gemachten Approximation,  $0.1 \lesssim |d| \lesssim 0.5$ , den obengenannten zu  $d$  proportionalen Kraftverläufen angepaßt. Man findet im Bereich  $\kappa/T \geq 20$  näherungsweise

$$\kappa_{eff} \approx 1.1 \kappa - 2.2 T. \quad (5.26)$$

## 5.7 Der Übergang zwischen prolaten und oblaten Formen

Für freie Vesikeln mit einem reduzierten Volumen  $v$  mit

$$0.652 \leq v < 1 \quad (5.27)$$

ist die stabile Form eine prolate. Die oblate Form ist metastabil [64]. Der Übergang zur stabilen Form kann mit Hilfe eines Mikroskops beobachtet werden und erfolgt nach einer mittleren Verweilzeit im Bereich von ca. 75 s [143]. Durch die Einführung einer aus der beobachteten Vesikelprojektion abgeleiteten Asphärizität steht zudem eine beobachtbare Reaktionskoordinate im Sinne des Kramers-Escape-Problems zur Verfügung, die eine experimentelle Ermittlung der entsprechenden eingeschränkten freien Energie ermöglicht. Unter Berücksichtigung der hydrodynamischen Wechselwirkung der Vesikel mit dem umgebenden Wasser ergibt sich im Kramers-Formalismus ein zu der obengenannten Verweilzeit ähnlicher Wert [143].

Im Gegensatz zu der von Döbereiner und Seifert eingeführten obengenannten Asphärizität kann sich die in dieser Arbeit definierte im Zeitverlauf unstetig ändern. Die eingeschränkte freie Energie  $F(d)$  stellt damit keine Energiebarriere im Kramersschen Sinne

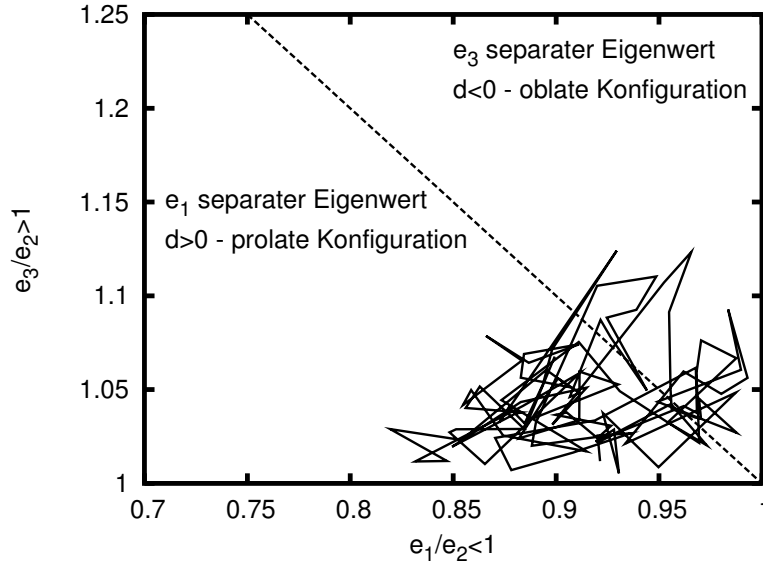


Abbildung 5.13: Monte-Carlo-Trajektorie einer fluiden Vesikel mit frei veränderlichem Volumen, deren triangulierte Oberfläche  $N_e = 100$  Vertices umfaßt. Es wurden nur lokale Vertexbewegungen und *Bond Flips* zugelassen. Ein Segment der Trajektorie entspricht 10 Monte-Carlo-Schritten.

dar. Selbst wenn sich die Asphärizität  $d$  nur an einer wohldefinierten Stelle sprunghaft ändert und damit die Potentialbarriere bekannt ist, kann nicht die Verweilzeit im Kramers-Formalismus berechnet werden. Hierfür wäre zusätzlich die Kenntnis der zweiten Ableitung am Sattelpunkt der freien Energie notwendig.

### 5.7.1 Mögliche Reaktionskoordinaten für ein Kramers-Modell

Bei freien Vesikeln ohne vorgegebenes Volumen werden keine Werte  $d \simeq 0$  erreicht. Die Asphärizität  $d$  springt vielmehr in einem großen Bereich von positiven zu negativen Werten und zurück. In Abbildung 5.13 ist die Trajektorie der Quotienten der Eigenwerte des Trägheitstensors für eine Monte-Carlo-Simulation einer fluiden Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 10T$  und 100 Vertices in der Triangulierung dargestellt. Die Eigenwerte sind dabei aufsteigend geordnet, so daß stets  $e_1 \leq e_2 \leq e_3$  ist und die Trajektorie stetig ist. Die Quotienten der Eigenwerte des Trägheitstensors des Vesikelinneren können offensichtlich nicht als Reaktionskoordinate für den Übergang von einer oblaten zu einer prolater Vesikelform verwendet werden. Weiterhin ist der Abbildung zu entnehmen, daß die Vesikel fast immer biaxial deformiert ist, denn bei Rotationskörpern ist  $e_1 = e_2$  für prolater Formen und  $e_2 = e_3$  bei oblater Formen. Außerdem ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit im Bereich positiver Asphärizitäten größer als im Bereich negativer. Dies deutet darauf hin, daß die eingeschränkte freie Energie für prolater Formen kleiner als für oblater Formen ist. Für größere Vertexanzahlen  $N_e$  in der Triangulierung ergibt sich ein ähnliches Verhalten. Simulationen mit jeweils  $10^{10}$  Monte-Carlo-Schritten ergaben folgende durchschnittlichen Verweilzeiten  $t_{prolat}$  und  $t_{oblat}$  (in Monte-Carlo-Schritten) im Bereich prolater bzw. oblater Formen

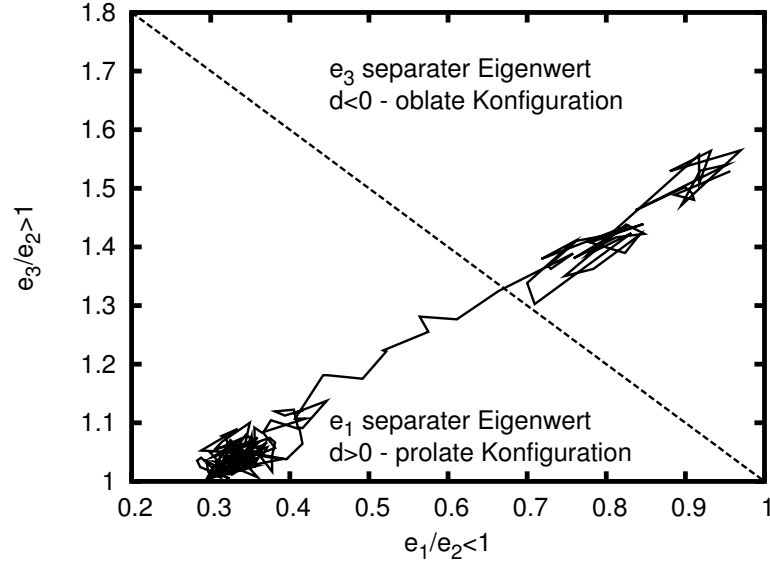


Abbildung 5.14: Monte-Carlo-Trajektorie einer anfänglich prolaten fluiden Vesikel, deren triangulierte Oberfläche 100 Vertices umfaßt und deren Volumen durch das Vorhandensein osmotisch aktiver Teilchen eingeschränkt ist. Ein Segment der Trajektorie entspricht 10000 Monte-Carlo-Schritten.

$e$	$t_{prolat}$	$t_{oblat}$	$t_{prolat}/t_{oblat}$
100	486	348	1.40
200	1414	1087	1.30
300	2455	1616	1.52
400	3836	2601	1.47
500	5514	3795	1.46

Bereits bei geringen Osmolaritäten in und außerhalb der Vesikel ergibt sich ein anderes Bild. Es wurde eine Vesikel mit 100 Vertices in der Triangulierung der Oberfläche,  $N = 2000$  osmotisch aktiven Teilchen im Vesikelinneren, einer äußeren Konzentration von  $c_{ex} = 780 R_0^{-3}$  osmotisch aktiven Teilchen pro Einheitsvolumen (also  $v = \frac{V_{osm}}{V_{max}} \approx 0.8$ ) und einer Biegesteifigkeit von  $\kappa = 10T$  untersucht. Die Trajektorie einer Monte-Carlo-Simulation mit ausschließlich lokalen Monte-Carlo-Schritten ist in Abbildung 5.14 gezeigt. Da sich das von der Trajektorie berührte Gebiet in eindeutiger Weise als Funktion des Quotienten aus dem kleinsten und dem mittleren der drei Eigenwerte des Trägheitstensors des Vesikelinneren schreiben läßt, kann dieser im vorliegenden Fall als Reaktionskoordinate für ein Kramers-Modell verwendet werden. Simulationen des gleichen Systems und erhöhten Osmolaritäten bei konstantem  $V_{osm}$  liefern ähnliche Trajektorien. In allen Fällen konnte ein Übergang von einer prolaten zu einer oblaten Form nicht beobachtet werden. Eine Berechnung der eingeschränkten freien Energie mit diesem Quotienten als Parameter erweist sich als schwierig, da der Quotient die Biaxialität der Vesikel beschreibt, die durch einachsige Deformationen nicht effizient, das heißt nicht in relativ wenigen Monte-Carlo-Schritten, verändert werden kann. Dies erschwert die Erzeugung von Histogrammen für den Quotienten der Eigenwerte, aus denen die verallgemeinerte Kraft berechnet werden soll.

### 5.7.2 Abschätzen der Monte-Carlo-Zeitskala

Eine weitere Möglichkeit für eine Abschätzung der Übergangzeiten zwischen prolaten und oblaten Formen fluiden Vesikeln mit reduziertem Volumen besteht in der direkten Beob-

achtung des Formübergangs und der Eichung eines Zeitschritts  $\Delta t_{MC}$  für lokale Monte-Carlo-Schritte an experimentellen Zeitskalen.

Die Bewegung kolloidaler Teilchen mit hydrodynamischer Wechselwirkung kann mit Hilfe des von Ermak et al. [144] angegebenen Algorithmus für Brownsche Dynamik modelliert werden. Dieselbe zugrunde liegende Fokker-Planck-Gleichung kann mit Hilfe des Metropolis-Monte-Carlo-Algorithmus numerisch gelöst werden [145, 146]. Beide Integrationsalgorithmen erweisen sich dabei als im wesentlichen äquivalent [147]. Auf diese Weise kann bei geeignet gewählten Monte-Carlo-Schritten jedem Schritt eine Zeit  $\Delta t_{MC}$  zugewiesen werden. Für sphärische Teilchen mit Radius  $R$  ergibt sich [146]

$$\Delta t_{MC} = \frac{\pi\eta R (\Delta r)^2}{T}, \quad (5.28)$$

wobei  $\eta$  die Viskosität des umgebenden Mediums ist und  $\Delta r$  die maximal in einem Monte-Carlo-Schritt zurücklegbare Wegstrecke der einzelnen Teilchen. In Anlehnung an diese Argumentation werden die Vertices der Triangulierung als kolloidale Teilchen aufgefaßt und nur lokale Monte-Carlo-Schritte zugelassen. Unter lokalen Monte-Carlo-Schritten ist dabei die Bewegung einzelner Vertices der Triangulierung bzw. eine Änderung der lokalen Konnektivität zu verstehen. Die in Kapitel 3 angegebenen nichtlokalen Änderungen der Vesikelform beschreiben keine kleinen Bewegungen von Membranteilen und sind im weiteren auszuschließen. Auf Grund der Tatsache, daß die Vertices eine Fläche beschreiben, und daß Änderungen der Konnektivität der Vertices in eigenen Monte-Carlo-Schritten (*Bond Flips*) erfolgen, kann Gleichung (5.28) nicht direkt zur Eichung der Monte-Carlo-Zeitskala herangezogen werden.

Im folgenden werden freie fluide Vesikeln konstanter Oberfläche und einer Biegesteifigkeit  $\kappa = 10T$  betrachtet, deren Triangulation 100, 200, 300, 400 oder 500 Vertices umfaßt. Das Volumen wurde nicht vorgegeben, fluktuiert aber so wenig, daß es als konstant angenommen werden soll. Die Oberfläche mit Ortsvektoren  $\mathbf{r}$  dieser fast sphärischen Vesikeln kann nach Kugelflächenfunktionen entwickelt werden [148]

$$\mathbf{r}(\theta, \phi) = R_0 \left( 1 + \sum_{l=2}^{l_{max}} \sum_{m=-l}^l u_{lm} Y_{lm}(\theta, \phi) \right) \begin{pmatrix} \cos \phi \sin \theta \\ \sin \phi \sin \theta \\ \cos \theta \end{pmatrix}. \quad (5.29)$$

Die Autokorrelationsfunktionen der Entwicklungskoeffizienten zeigen ein exponentielles Relaxationsverhalten [148]

$$\langle u_{lm}^*(t) u_{lm'} \rangle = \delta_{ll'} \delta_{mm'} \langle |u_{lm}|^2 \rangle \exp\left(-\frac{t}{t_{relax,lm}}\right) \quad (5.30)$$

mit Relaxationszeiten

$$t_{relax}(l) = \langle |u_{lm}|^2 \rangle \frac{\eta R_0^3 (2l+1)(2l^2+2l-1)}{T l(l+1)}, \quad (5.31)$$

wobei  $\eta$  die dynamische Viskosität der die Vesikel umgebenden Flüssigkeit ist und  $R_0$  der Vesikelradius. Diese Rechnung greift auf das Konzept effektiver Oberflächenspannungen zurück [148, 149, 87], auf das an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden soll.

Für  $l=2$  und  $m=0$  läßt sich der Entwicklungskoeffizient  $u_{lm}$  besonders einfach bei Kenntnis des Trägheitstensors des Vesikelinneren ermitteln (siehe Anhang F). Die zugehörige Relaxationszeit ist durch

$$t_{relax,exp} = \langle |u_{2,0}|^2 \rangle \frac{55}{6} \frac{\eta R_0^3}{T} \quad (5.32)$$



gegeben. Der Quotient aus Relaxationszeit und dem auf der rechten Seite stehenden Mittelwert läßt sich auch durch Monte-Carlo-Simulationen, die als Zeitentwicklung aufgefaßt werden, bestimmen. Dies ermöglicht die Eichung einer Monte-Carlo-Zeit  $\Delta t_{MC}$ .

Für die Relaxationszeiten ergibt sich aus Monte-Carlo-Simulationen in Abhängigkeit von der Anzahl  $N_e$  der Vertices in der Triangulierung

$$t_{relax,MC} \simeq 3.3 N_e^{3/2} \times (N_e \Delta t_{MC}), \quad (5.33)$$

wobei  $N_e$  einzelne lokale Monte-Carlo-Schritte zu einem Monte-Carlo-Gesamtschritt (auch *Sweep* genannt) mit der Zeit  $t_{sweep} = N_e \Delta t_{MC}$  zusammengefaßt wurden. Der Mittelwert des Entwicklungskoeffizienten ist im wesentlichen unabhängig von der Vertexanzahl

$$\langle |u_{2,0}|^2 \rangle \approx 0.003. \quad (5.34)$$

Unter Verwendung  $\eta = 10^{-3}$  Pa·s für die Viskosität von Wasser und  $R_0 = 10 \mu\text{m}$  für den Vesikelradius im Experiment ergibt sich für die Monte-Carlo-Zeit eines Sweeps ein Wert zwischen  $t_{sweep} \approx 2$  ms für  $N_e = 100$  Vertices und  $t_{sweep} \approx 0.2$  ms für  $N_e = 500$  Vertices. Wie aus Abbildung 5.13 ersichtlich ist, lassen sich keinerlei lokale Minima der freien Energie anhand der Trajektorie finden. Insofern lassen sich Übergangszeiten zwischen oblaten und prolaten Konfigurationen schwer ermitteln. Nimmt man für den in Abbildung 5.13 dargestellten Fall mit 100 Vertices etwa 100 Monte-Carlo-Schritte an, so würden sich Übergangszeiten von ca.  $\tau = 2$  ms ergeben.

Im Vergleich wurde die Trajektorie einer Vesikel mit 100 Vertices und vorgegebenem Volumen untersucht (siehe Abschnitt 5.7.1). Es ergab sich für diesen Fall

$$t_{relax,MC} \approx 1.4 \cdot 10^6 \Delta t_{MC} \quad (5.35)$$

und

$$\langle |u_{2,0}|^2 \rangle \approx 0.0026. \quad (5.36)$$

Eine analoge Rechnung wie oben liefert eine Monte-Carlo-Zeit

$$t_{sweep} \approx 0.4 \text{ ms}. \quad (5.37)$$

Nimmt man für den beobachteten Übergang von einer oblaten zu einer prolaten Form, wie in Abbildung 5.14 dargestellt,  $5 \cdot 10^6$  Monte-Carlo-Schritte an, so ergibt sich eine Übergangszeit

$$\tau \simeq 20 \text{ s}. \quad (5.38)$$

Dieser Wert ist von derselben Größenordnung wie der von Döbereiner und Seifert [143] erhaltene. Dort waren jedoch wesentlich größere Konzentrationen osmotisch aktiver Teilchen vorhanden, und das reduzierte Vesikelvolumen betrug  $v \approx 0.96$ . Auf Grund der dort verwendeten sehr großen Konzentrationen läßt sich dieses Experiment nicht bei Beschränkung auf die eingangs genannten lokalen Monte-Carlo-Schritte simulieren. Es wäre das Volumen bis auf einen kleinen Schwankungsbereich vorzugeben, um überhaupt eine sinnvolle Akzeptanzrate für die Monte-Carlo-Schritte zu erzielen.

## 5.8 Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, daß freie fluide Vesikeln ohne vorgegebenes Volumen in drei Dimensionen bei endlicher Temperatur nicht exakt sphärisch, sondern, mit annähernd gleicher Wahrscheinlichkeit, prolat bzw. oblat sind. Die auftretende Barriere der eingeschränkten freien Energie als Funktion der Asphärizität ist dabei nur als

lokales Minimum der Wahrscheinlichkeitsverteilung für die Asphärizität aufzufassen, da Übergänge von prolaten zu oblaten Formen möglich sind, bei denen sich die Asphärizität unstetig ändert. Dabei durchläuft die Vesikel biaxiale Konfigurationen, und die scheinbare Potentialbarriere muß nicht überwunden werden.

Mit Hilfe eines einfachen Modells wurde ferner nachgewiesen, daß diese Asphärizität ein entropischer Effekt ist, der im Dreidimensionalen weitestgehend modellunabhängig ist. Im Zweidimensionalen tritt der Effekt nicht auf.

Die Asphärizität kann durch Konzentrationen osmotisch aktiver Teilchen innerhalb der Vesikel, die größer sind als außerhalb der Vesikel, reduziert und gegebenenfalls kompensiert werden.

Als charakteristische Zeitskalen  $\tau$  für den Übergang zwischen prolaten und oblaten Formen findet man bei freiem Vesikelvolumen  $\tau=2$  ms und bei realistischen Osmolaritäten Werte im Bereich von Sekunden.

Mit Hilfe der eingeschränkten freien Energie als Funktion der Asphärizität der Vesikel konnte des weiteren eine effektive Biegesteifigkeit für die Deformation der gesamten Vesikel eingeführt werden. Diese Biegesteifigkeit erweist sich als etwas größer als die mikroskopische Biegesteifigkeit  $\kappa$  im Bereich  $\kappa \geq 20 T$ .

# Kapitel 6

## Vesikeln an attraktiven Substraten

### 6.1 Einleitung

Das Adhäsions- und Ablöseverhalten fluider Membranen an einem Substrat bei endlichen Temperaturen wird durch das Zusammenspiel der potentiellen Energie zwischen Membran und Substrat, der entropieinduzierten Abstoßung zwischen Membran und Substrat sowie der Oberflächenspannung der Membran bestimmt. Für im Mittel planare Membranen wurde dieses Zusammenspiel zwischen attraktiven Potentialen und entropieinduzierten Abstoßung von Lipowsky et al. [150, 68] sowie zwischen entropieinduzierter Abstoßung, Oberflächenspannung und Druck von Gompper und Kroll [69] und von Netz und Lipowsky [72] untersucht.

Im Gegensatz zu planaren Membranen, ist das Adhäsionsverhalten fluider Vesikeln durch ihre geschlossene Form beeinflusst und damit stark von ihrer Biegesteifigkeit abhängig, denn sowohl sehr kleine als auch sehr große Biegesteifigkeiten können die Adhäsion an das Substrat verhindern. Die aus der geschlossenen Topologie resultierenden Formen für verschwindende Temperatur in einem Kontaktpotential wurden in [93, 151, 152, 153] und im Rahmen einer selbstkonsistenten Theorie für Potentiale mit endlicher Reichweite in [149] bestimmt. Die Adhäsionseigenschaften fluider Vesikeln auf ebenen Substraten bei endlicher Temperatur wurden vor kurzem erstmalig systematisch von Gruhn und Lipowsky [154] mittels Monte-Carlo-Simulationen untersucht.

Zur experimentellen orts aufgelösten Bestimmung der Abstände zwischen der Vesikelmembran und dem ebenen Substrat bietet sich das Verfahren der *Reflection Interference Contrast* Mikroskopie an [155, 156, 157, 158, 159, 160, 161].

Im folgenden werden die Ergebnisse von Monte-Carlo-Simulationen für die Untersuchung des Abziehvorgangs einer fluiden Vesikel von einem attraktiven Substrat präsentiert, für die Untersuchung der Kontaktflächen adhärierter Vesikeln auf Substraten, der Formen adhärierter Vesikeln auf strukturierten planaren Substraten und für die Untersuchung adhäsionsinduzierter Oberflächenspannungen.

Das planare Substrat befindet sich bei  $z = 0$  und die Vesikel im Bereich positiver  $z$ -Koordinaten.

### 6.2 Abziehen einer Vesikel von einem Substrat

Das Abziehen einer fluiden Vesikel von einem attraktiven Substrat, wobei an einem Punkt der Oberfläche gezogen wird, wurde experimentell zum Beispiel von Guttenberg et al. [162] mit *Magnetic Tweezers* untersucht. Eine erste theoretische Behandlung dieses Prozesses wurde von Smith et al. [163, 164] durchgeführt. Dabei wurde jedoch nur der Fall verschwindender Temperatur betrachtet und die attraktive Wechselwirkung mit dem Substrat mit

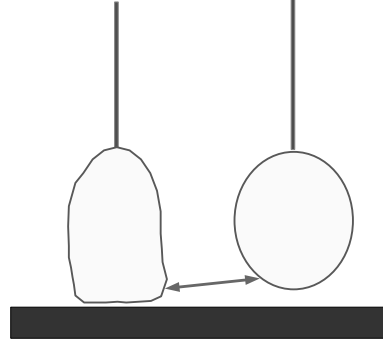


Abbildung 6.1: Hystereseeffekte beim Wegziehen und Heranführen einer fluiden Vesikel an ein attraktives Substrat. Der adhärierte Zustand konkurriert mit dem (fast) freien Zustand mit (fast) minimaler Biegeenergie.

Hilfe eines Kontaktpotentials modelliert, das heißt, sämtliche Fluktuationen der Vesikelmembran wurden ausgeklammert. In den Berechnungen konnte dabei die Bildung von dünnen Membranröhren beobachtet werden. Desweiteren konnte gezeigt werden, daß die anzuwendende Kraft für das Entfernen der Vesikel vom Substrat nicht monoton mit dem Abstand des festgehaltenen Punktes vom Substrat wächst und bei gegebener Kraft zwei metastabile Zustände mit endlicher Kontaktfläche zwischen Vesikelmembran und Substrat existieren können.

Um (i) thermische Fluktuationen (die einen entscheidenden Einfluß auf das Ablöseverhalten haben), (ii) ein kontinuierliches Ablösen der Vesikel und (iii) den Effekt des Adhärenzens einer ursprünglich nur schwach gebundenen und wenig deformierten Vesikel berücksichtigen zu können, soll im folgenden die Wechselwirkung zwischen der Vesikelmembran und dem attraktiven Substrat durch ein 9-3-Lennard-Jones-Potential wie in Gleichung (3.5) beschrieben werden. Für hinreichend große Potentialtiefen in Verbindung mit einer geringen Reichweite  $\sigma_{LJ}$  sind metastabile Zustände zu erwarten. Sei

$$z_{max} \equiv \max_{\mathbf{r}} r_z \quad (6.1)$$

der Abstand des am weitesten vom Substrat entfernten Punktes der Vesikelmembran und

$$z_{min} \equiv \min_{\mathbf{r}} r_z \quad (6.2)$$

der minimale Abstand der Vesikelmembran vom Substrat. Bei gegebenem Abstand  $z_{max}$  konkurrieren Konfigurationen, bei denen die Vesikel stark am Substrat adhäriert ist mit

$$z_{min} \ll \sigma_{LJ},$$

aber auch stark deformiert ist, mit Konfigurationen, bei denen die Vesikel annähernd die Form ohne Einfluß eines äußeren Potentials besitzt und nur schwach adhäriert ist mit

$$z_{min} \simeq \sigma_{LJ}$$

(siehe Abb. 6.1). Die den Abziehprozeß der Vesikel vom Substrat beschreibende eingeschränkte freie Energie ist folglich eine Funktion von  $z_{min}$  und  $z_{max}$ . Dabei wird angenommen, daß (meta-)stabile Konfigurationen mit unterschiedlicher endlicher Kontaktfläche, wie sie von Smith et al. [163] beobachtet wurden, zwangsläufig zu unterschiedlichen Werten  $z_{max}$  gehören.

Die für die Ermittlung der eingeschränkten freien Energien notwendigen Verfahren basieren auf der Erzeugung von Histogrammen für diese beiden Parameter. Bei den in der

vorliegenden Arbeit verwendeten Triangulierungen zur Diskretisierung der Vesikeloberfläche lassen sich jedoch mit diesen Werten keine hinreichend glatten Histogramme erstellen, so daß entsprechende effektive Größen

$$z_{min,eff} \equiv z_{min} + \frac{1}{V} \int_V (z - z_{min}) \exp\left(\frac{z_{min} - z}{L_0}\right) dV \quad (6.3)$$

$$z_{max,eff} \equiv z_{max} - \frac{1}{V} \int_V (z_{max} - z) \exp\left(\frac{z - z_{max}}{L_0}\right) dV \quad (6.4)$$

Verwendung fanden, in die die unmittelbare Umgebung der Extrempunkte mit eingeht. Da im weiteren ausschließlich auf diese effektiven Größen Bezug genommen wird, sollen sie wieder mit  $z_{min}$  bzw.  $z_{max}$  bezeichnet werden.

Diese Simulationen wurden für eine Triangulierung mit 500 Vertices, einer Biegesteifigkeit von  $\kappa = 20T$  und einem 9-3-Lennard-Jones-Potential wie in Gleichung (3.5) mit  $\sigma_{LJ} = 0.03 R_0$  und  $W_{LJ} = 5000 T/R_0^2$  durchgeführt. Die gewählte Anzahl der Vertices in der Triangulierung ist bereits im oberen Bereich der Triangulierungen, bei denen sich noch in vernünftiger Rechenzeit Mittelwerte berechnen lassen. Jedoch reicht diese Anzahl für die Erzeugung dünner Membranfäden mit einem Radius  $R \lesssim 0.1 R_0$ , wie dies von Smith et al. [164] vorhergesagt wurde, bei weitem nicht aus. Als Monte-Carlo-Schritte wurden lediglich lokale Vertexbewegungen und *Bond Flips* durchgeführt, und zwar im Verhältnis zwei zu drei.

Wie bereits bei der Bestimmung der freien Energie in Abhängigkeit der Asphärität in Kapitel 5 ließ die unzureichende Diffusion der Monte-Carlo-Trajektorie im Konfigurationsraum keine Verwendung der Histogrammethode von Ferrenberg und Swendsen zu, so daß das in Abschnitt 4.5.2 entwickelte Verfahren zur Berechnung eingeschränkter freier Energien hier Anwendung fand. Um nur vernünftige Ausdehnungen der Vesikel zu betrachten, wurden  $z_{min}$  und statt  $z_{max}$  die effektive Vesikelhöhe

$$h \equiv z_{max} - z_{min} \quad (6.5)$$

senkrecht zum Substrat als Variablen in der Simulation verwendet. Die Berechnung der verallgemeinerten Kräfte  $-\frac{\partial F}{\partial z_{min}}$  und  $-\frac{\partial F}{\partial h}$  erfolgte auf dem durch

$$\frac{z_{min}}{R_0} \in \left\{ 0.03 + \mu \frac{0.5 - 0.03}{16} \mid \mu = 0, 1, \dots, 15 \right\}$$

$$\frac{h}{R_0} \in \{1.3, 1.4, \dots, 2.8\}$$

definierten endlichen rechteckigen Gitter.

Die Anwendung des Algorithmus von Abschnitt 4.5.2 liefert in Verbindung mit der zu Gleichung (6.5) gehörenden Rücktransformation das in Abbildung 6.2 dargestellte Freie-Energie-Profil.

Auf Grund der verwendeten großen Potentialtiefe ist der Widerstand der Vesikel gegenüber Kompression und Streckung in Abständen  $z_{min} \gg \sigma_{LJ}$  vom attraktiven Substrat kaum zu beobachten.

Für stark adhärierte Vesikeln besteht eine Konkurrenzsituation zwischen Formen mit kleiner Kontaktfläche mit einem relativ geringen negativen Beitrag  $E_{substrate}$  zur Gesamtenergie und geringer Biegeenergie sowie Formen mit großer Kontaktfläche und großer Biegeenergie (bei kleinen Werte  $z_{min}$  in Abbildung 6.2). In dem untersuchten Fall sind die erstgenannten Formen die stabilen. Dies konnte anhand der Berechnung eingeschränkter freier Energien als Funktion der projizierten Kontaktfläche bzw. der potentiellen Energie zwischen Vesikelmembran und dem attraktiven Substrat bestätigt werden.

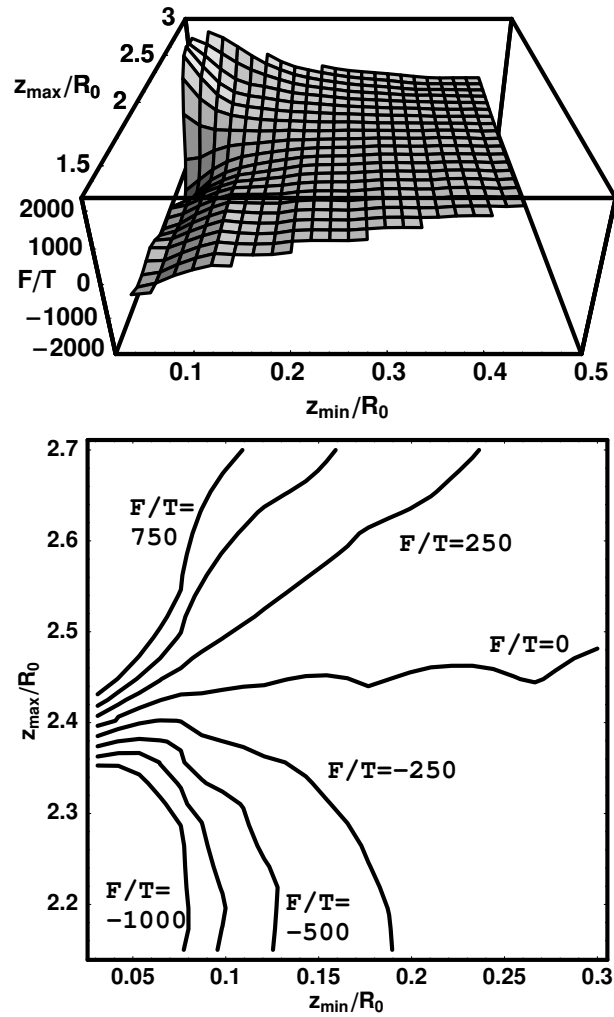


Abbildung 6.2: Die eingeschränkte freie Energie  $F$  als Funktion von  $z_{min}$  und  $z_{max}$  in Einheiten der thermischen Energie.

Während des Abziehprozesses der Vesikel vom attraktiven Substrat ist  $z_{max}$  stets vorgegeben, und  $z_{min}$  wird bei langsamer Änderung von  $z_{max}$  zunächst dem entsprechenden absoluten Minimum der freien Energie folgen. Dies ist in Abbildung 6.3 veranschaulicht. Inwieweit das abrupte Ablösen bei  $z_{max} \simeq 2.43 R_0$  tatsächlich unstetig ist, kann an dieser Stelle nicht geklärt werden, da die eingeschränkte freie Energie  $F(z_{min}, z_{max})$  nur auf einem groben Gitter von Werten  $z_{min}$  und  $z_{max}$  bestimmt wurde. Abbildung 6.4 zeigt eine Reihe typischer Konfigurationen für verschiedene  $z_{max}$  und kleine Werte  $z_{min}$ . Die sich entsprechend der Kurve in Abbildung 6.3 einstellenden Formen sind gekennzeichnet.

### Schlußfolgerungen

Die in diesem Abschnitt besprochenen Simulationen zeigen die Anwendbarkeit des in Abschnitt 4.5.2 dargestellten Verfahrens zur Berechnung eingeschränkter freier Energien mit mehreren Parametern. Es konnten die stabile Form am attraktiven Substrat adhärenen Vesikeln sowie die Formen während des Ablösevorgangs bestimmt werden. Abbildung 6.3 ist ferner zu entnehmen, daß die endliche Reichweite des attraktiven Potentials wesentlichen Einfluß auf das Ablöseverhalten fluider Vesikeln hat. Inwieweit dieser Prozeß diskontinuierlich verläuft, ist jedoch mit weiteren Simulationen zu untersuchen.

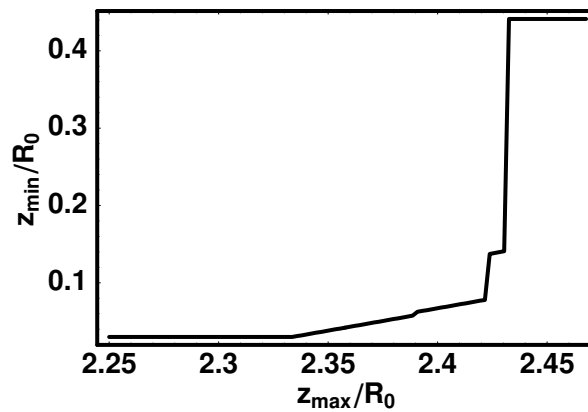


Abbildung 6.3: Der minimale Abstand  $z_{min}$  zwischen Vesikelmembran und Substrat, der die freie Energie  $F(z_{min}, z_{max})$  für einen gegebenen Wert  $z_{max}$  minimiert. Der hier zugelassene Maximalabstand betrug  $z_{max} = 0.47 R_0$ .

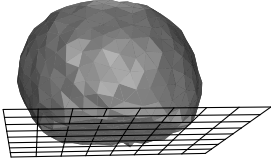
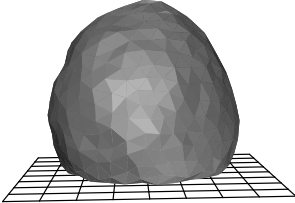
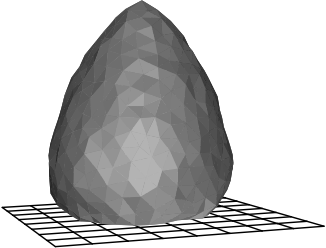
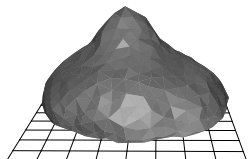
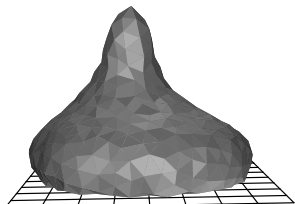
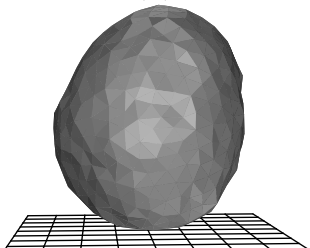
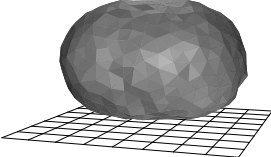
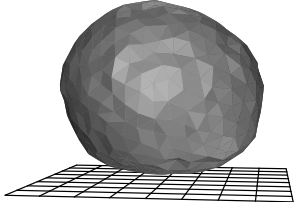
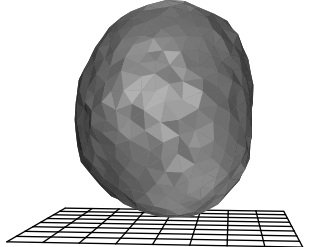
$\frac{z_{min}}{R_0}$	Vesikelhöhe $h/R_0 = (z_{max} - z_{min})/R_0$		
	1.4	1.8	2.2
0.03	(a) 	(b) 	(c) 
0.06			(d) 
0.09			(e) 

Abbildung 6.4: Typische Vesikel-Konfigurationen für verschiedene Werte  $z_{min}$  und  $h \simeq z_{max}$  (für sehr kleine Abstände  $z_{min}$  der Vesikel vom attraktiven Substrat). Mit Buchstaben gekennzeichnete Formen (a-e) bilden eine Abfolge während des langsamen Abziehens der Vesikel vom attraktiven Substrat.

### 6.3 Kontaktzonen von Vesikeln

Beim Kontakt fluiden Vesikeln mit Substraten, sei es durch Adhäsion oder durch andere äußere Felder, sind verschiedene Formübergänge zu beobachten. So sagen zum Beispiel Seifert und Lipowsky [95] für attraktive Potentiale endlicher Reichweite gepinnte Zustände für Vesikeln voraus, bei denen die Form der Vesikel im wesentlichen die ist, die sich ohne Einwirken äußerer Felder ergibt. Durch Erhöhung der Temperatur über einen Schwellenwert hinaus findet schließlich ein thermisch induziertes Ablösen vom Substrat statt. Dies liefert eine erste Motivation für eine detailliertere Untersuchung der Kontaktzone zwischen Vesikel und Substrat.

Als zweites sei die experimentelle Beobachtung von Marx et al. [161] angeführt, daß der Abstand zwischen Vesikelmembran und Substrat in der Kontaktfläche bei Beimischung von Cholesterol in die Lipiddoppelschicht unerwartet eine stark asymmetrische Verteilung aufweist, obwohl Cholesterol sehr gut in Lipiddoppelschichten gelöst werden kann und für fluktuierende einkomponentige Membranen eine Gauß-Verteilung um einen mittleren Abstand erwartet wird.

Im folgenden soll daher die Verteilung des Abstands zwischen Vesikel und Substrat ortsaufgelöst für unterschiedliche Temperaturen untersucht werden, Dabei wird die Adhäsion einer fluiden Vesikel an einem attraktiven homogenen Substrat untersucht bzw. unter dem Einfluß eines homogenen Feldes, wobei das Substrat als harte Wand ohne attraktives Potential angenommen wird.

Die Vesikeloberfläche wurde durch eine dynamisch triangulierte Fläche modelliert, und es wurden lediglich lokale Vertexbewegungen und *Bond Flips* im Verhältnis zwei zu drei in der Simulation durchgeführt.

Vor der Bezugnahme auf die einzelnen Systeme sind einige allgemeine Begriffe zu klären.

#### 6.3.1 Definition der Kontaktfläche

Die Definition der Kontaktfläche einer Vesikel an einem den Konfigurationsraum einschränkenden Substrat erfolgt in gewissen Grenzen willkürlich. Anhand mehrerer Parameterwahlen und entsprechender charakteristischer Konfigurationen erwies sich im Falle einer attraktiven Wechselwirkung zwischen Substrat und Vesikelmembran folgendes Kriterium als sinnvoll: Ist der Beitrag der attraktiven Wechselwirkung zur Konfigurationsenergie für ein bestimmtes Dreieck kleiner als die negative thermische Energie  $-T$ , so gehört das Dreieck zur Kontaktfläche, anderenfalls nicht. Im Falle eines homogenen Feldes, das die Vesikel gegen das harte Substrat drückt, darf die  $z$ -Koordinate des Schwerpunkts des Dreiecks nicht die anderthalbfache mittlere Kantenlänge  $L_0$  im *Tethered Beads* Modell überschreiten, damit das Dreieck zur Kontaktfläche gehört.

#### 6.3.2 Aufteilung der Kontaktfläche in Ringe gleicher Breite

Für die ortsaufgelöste Untersuchung der Kontaktflächen fluiden Vesikeln ist die Angabe einer Meßvorschrift für die Messung von Abständen innerhalb der Kontaktfläche notwendig. Das wesentliche Interesse konzentriert sich hierbei auf die Messung von Abständen vom Rand bzw. vom Zentrum der Kontaktfläche. Hierfür läßt sich ein sehr effizienter Algorithmus angeben.

Da durch das *Tethered Beads* Modell gleichseitige Dreiecke mit einheitlicher Kantenlänge die bevorzugte Form für die Dreiecke der Triangulierung sind, können diese Dreiecke zur Abschätzung von Flächeninhalten und Längen verwendet werden. Dies reduziert den Rechenzeitaufwand in automatischen Abläufen erheblich gegenüber einer „exakten“ Vermessung der Kontaktzone der triangulierten Vesikeloberfläche.



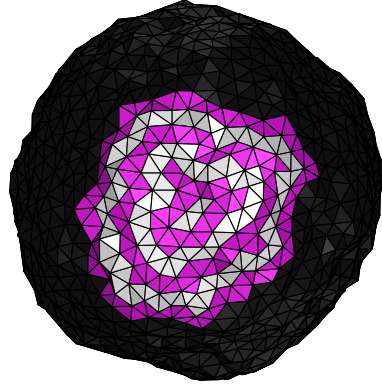


Abbildung 6.5: Aufteilung der Kontaktfläche einer mit 1500 Vertices triangulierten Vesikel in Ringe, die unter dem Einfluß des Schwerfeldes auf das Vesikelvolumen an ein ebenes rein repulsives Substrat gedrückt wird. Das Substrat ist parallel zur Papierebene. Die Kontaktzone besitzt eine relativ große Rauigkeit, so daß die Projektionen der zur Kontaktfläche gehörenden Dreiecke nicht immer annähernd gleichseitige Dreiecke darstellen.

Zur Messung der Abstände von Punkten innerhalb der Kontaktfläche zum Rand bzw. Zentrum der Kontaktfläche bietet sich daher die Aufteilung der Kontaktfläche in Ringe minimaler Breite anhand der Triangulierung an, wobei am Rand der Kontaktfläche mit der Aufteilung begonnen wird und sich jeweils übernächste Ringe in keinem Punkt berühren dürfen. Es ist möglich, daß ab der Ermittlung des zweiten Rings mehrere örtlich getrennte Ringe auftreten.

Diese Zerlegung der Kontaktfläche ist eindeutig und läßt sich effizient nach jedem akzeptierten Monte-Carlo-Schritt in Simulationen durchführen. Eine solche Zerlegung ist exemplarisch in Abbildung 6.5 dargestellt, wobei die Ringe alternierend farblich hervorgehoben sind. Die Breite  $r_b$  eines solchen Rings kann durch die Höhe eines gleichseitigen Dreiecks mit der mittleren Kantenlänge  $L$  im *Tethered Beads* Modell als Seitenlänge abgeschätzt werden. Ist  $N_e$  die Anzahl der Vertices in der Triangulierung, so ergibt sich

$$r_b \simeq \frac{\sqrt{3}}{2} L_0 \simeq 3.3 \frac{R_0}{\sqrt{N_e}}. \quad (6.6)$$

### 6.3.3 Messung des Abstands zwischen Vesikel und Substrat

Die Untersuchung der Topographie der Kontaktfläche der Vesikel an einem planaren Substrat erfolgt experimentell üblicherweise bezüglich eines festen Koordinatensystems auf dem Substrat, was auch als Monge-Parametrisierung bezeichnet wird. Bei der Messung des lokalen Abstands  $z$  zwischen Vesikelmembran und Substrat wird damit implizit ein Wichtungsfaktor  $|n_z|$  mit  $0 \ll |n_z| \leq 1$  berücksichtigt, wobei  $\mathbf{n}$  der lokale Flächennormalen-Einheitsvektor auf der Membran in der Monge-Parametrisierung ist.

Für die triangulierte Vesikel ergibt sich damit folgendes Bild. Die Fläche auf dem Substrat, über der die Vesikelmembran einen Abstand kleiner als  $z_0$  hat, ist die Summe aller Dreiecksflächen bzw. entsprechender Anteile mit der Eigenschaft  $z \leq z_0$ , wobei der oben genannte für jedes Dreieck unterschiedliche Wichtungsfaktor zu berücksichtigen ist. Die Ableitung dieser mit steigendem  $z_0$  wachsenden Funktion ist die gesuchte Dichtefunktion für den Abstand zwischen der Vesikelmembran und dem planaren Substrat bei einer Betrachtung vom Substrat.

Diese Betrachtungen können offensichtlich auf einzelne Komponenten der in Ringe zerlegten Kontaktfläche der Vesikel übernommen werden, was eine orts aufgelöste Mes-

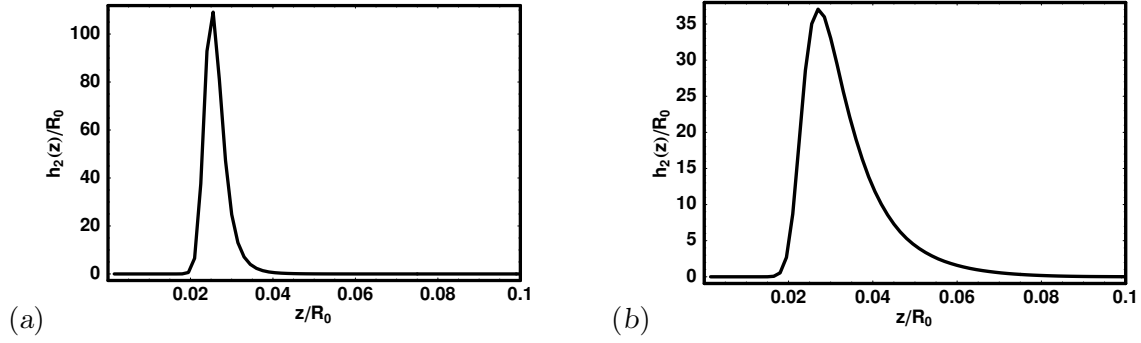


Abbildung 6.6: Abstandsdichte  $h_2(z)$  für eine fluide Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 10 T_0$  an einem attraktiven Substrat mit  $W_{LJ} = 3000 T_0/R_0^2$  und  $\sigma_{LJ} = 0.03 R_0$  bei den Temperaturen  $T = 1 T_0$  (a) und  $T = 3 T_0$  (b).

sung des Abstands zwischen Vesikelmembran und Substrat ermöglicht. Die entsprechende Abstandsdichtefunktion für den vom Rand aus gesehen  $i$ -ten Ring sei im folgenden mit  $h_i(z)$  bezeichnet.

### 6.3.4 Vesikeln an einem attraktiven Substrat

Die attraktive Wechselwirkung einer Membran mit einem Substrat läßt sich in guter Näherung durch ein Lennard-Jones-Potential beschreiben. In diesem Abschnitt soll angenommen werden, daß diese Wechselwirkung gegenüber allen anderen äußeren Feldern dominiert und so stark ist, daß sich eine nennenswerte Kontaktfläche zwischen der Vesikel und dem Substrat bildet. Osmotische Effekte wurden an dieser Stelle nicht betrachtet.

Das verwendete 9-3-Lennard-Jones-Potential ist durch Gleichung (3.5) gegeben, wobei die Potentialtiefe  $W_{LJ}$  zwischen  $3000 T_0/R_0^2$  und  $7000 T_0/R_0^2$  gewählt wurde und die Längeneinheit  $\sigma_{LJ} = 0.03 R_0$  war. Die Biegesteifigkeit betrug  $\kappa = 10 T_0$ , und die Temperatur  $T$  wurde zwischen  $T_0$  und  $4 T_0$  variiert. Für diese Parameter bestand die Zerlegung der Kontaktfläche der 500 Vertices umfassenden triangulierten Vesikelmembran aus mindestens vier Ringen.

Bei den durchgeführten Monte-Carlo-Simulationen ergibt sich dabei folgendes Bild. Die Profile der Abstandsdichtefunktionen  $h_i$  haben bei vorgegebenen Parametern für  $i \geq 2$  eine mit steigendem  $i$  in grober Näherung linear abnehmende Amplitude. Sie besitzen stets genau ein Maximum in der Nähe von  $\sigma_{LJ}$ , das mit steigender Temperatur nur leicht zu größeren Werten verschoben wird. Mit steigender Temperatur fallen die Profile jedoch für  $z > \sigma_{LJ}$  zunehmend langsamer ab. In Abbildung 6.6 sind exemplarisch zwei Abstandsdichteprofile für verschiedene Temperaturen dargestellt.

### 6.3.5 Gravitationseinfluß bei osmotisch aktiven Teilchen

Im folgenden soll angenommen werden, daß das Vesikelvolumen durch osmotische Effekte konstant gehalten wird, wobei für die Anzahl osmotisch aktiver Teilchen im Vesikelinneren  $N = 10000$  gesetzt wurde und für deren Dichte außerhalb der Vesikel  $c_{ex} = 2650 R_0^{-3}$ , so daß sich ein reduziertes Volumen von  $v \simeq 0.9$  einstellte. Weiterhin soll die attraktive Wechselwirkung zwischen der Vesikelmembran und dem Substrat so klein sein, daß sie vernachlässigt werden kann und das Substrat als harte Wand modelliert werden kann. Durch die Verwendung osmotisch aktiver Teilchen unterschiedlicher Molekularmassen innerhalb und außerhalb der Vesikelmembran entstehen dort Flüssigkeiten unterschiedlicher Dichte,

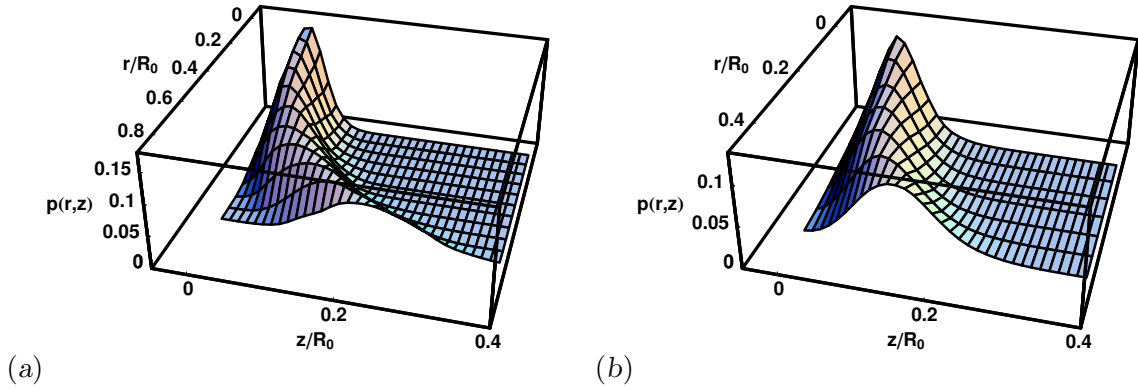


Abbildung 6.7: Histogramme  $p(r, z)$  für den Abstand  $z$  zwischen Vesikelmembran und dem rein repulsiven Substrat in Abhängigkeit vom lateralen Abstand  $r$  zum Zentrum der auf das Substrat projizierten Kontaktfläche bei Wirkung der Schwerkraft mit  $\bar{g}_V = 10 T_0/R_0$  auf die Massendichtedifferenz osmotisch aktiver Teilchen innerhalb und außerhalb der Vesikel. Die Temperatur wurde auf  $T = T_0$  (a) bzw. auf  $T = 3 T_0$  (b) gesetzt.

die einen Beitrag

$$E_g = \bar{g} \Delta\mu \int z dV \quad (6.7)$$

zur Gesamtenergie gemäß Gleichung (2.17) bewirken, wobei  $\Delta\mu$  der Massendichteunterschied der Flüssigkeiten in bzw. außerhalb der Vesikel ist und  $\bar{g}$  die Feldstärke des homogenen Schwerfeldes. Im Falle eines konstanten Vesikelvolumens läßt sich dieser Ausdruck in

$$E_g = \bar{g}_V B_z \quad (6.8)$$

mit  $\bar{g}_V \equiv \bar{g} \Delta\mu V$  umschreiben. Dabei ist  $B_z$  die  $z$ -Komponente des Schwerpunkts des Vesikelvolumens. Für *Giant Vesicles* mit einem Radius  $R_0 = 50 \mu\text{m}$  und einer Massendichtedifferenz von  $\Delta\mu = 0.1 \text{ g cm}^{-3}$  sind bei Raumtemperatur Werte bis  $\bar{g}_V \simeq 10^4 T/R_0$  realistisch.

In Simulationen mit  $\bar{g}_V = 10 T_0/R_0$ ,  $\kappa = 5 T_0$  und  $T = T_0$  lassen sich bei triangulierten Vesikeloberflächen mit 1500 Vertices bereits Kontaktflächen mit einem Radius  $R_A^* \simeq 0.5 R_0$  erzeugen. Es ergibt sich ein ähnliches Bild wie im Falle einer dominierenden attraktiven Wechselwirkung zwischen der Vesikelmembran und dem Substrat. Im Zentrum der Kontaktfläche ist der Abstand zwischen Membran und Substrat annähernd unabhängig vom betrachteten Abstand  $r$  des Referenzpunktes auf dem Substrat vom Zentrum der projizierten Kontaktfläche. Mit zunehmender Temperatur wird diese Verteilung breiter. Abbildung 6.7 zeigt entsprechende Histogramme für den Abstand  $z$  der Membran vom Substrat, wobei die Histogrammhöhen  $p(r, z_i)$  der Normierung

$$\sum_i p(r, z_i) = 1$$

für die jeweiligen Werte  $r$  genügen. Diese Histogramme bzw. die entsprechenden Maxima von  $p(r, z)$  mit gegebenem Abstand  $r$  liefern eine lokale „mittlere“ Vesikelform.

### 6.3.6 Gravitationseinfluß auf die Vesikelmembran

Abschließend soll angenommen werden, daß sowohl die attraktive Wechselwirkung zwischen der Vesikel und dem Substrat als auch osmotische Effekte klein sind und statt dessen der Einfluß des homogenen Schwerfeldes auf die Vesikelmembran den dominierenden Beitrag zur Gesamtenergie des Systems liefert. Dieser kann durch den Ausdruck

$$E_{\text{gravi}} = \bar{g}_A b_z \quad (6.9)$$

beschrieben werden, wobei  $\bar{g}_A$  die auf das Volumen der Vesikelmembran normierte Feldstärke des homogenen Schwerfeldes ist und  $b_z$  die  $z$ -Komponente des Schwerpunkts der Vesikelmembran. Für *Giant Vesicles* mit  $R_0=50\ \mu\text{m}$  und einer Massendichtedifferenz  $\Delta\mu$  von Vesikelmembran und umgebender Flüssigkeit die betragsmäßig kleiner als  $\Delta\mu = 0.5\ \text{g cm}^{-3}$  ist<sup>1</sup>, ergeben sich Maximalwerte  $\bar{g}_A \simeq 150T/R_0$  für die skalierte Feldstärke des Schwerfeldes bei Raumtemperatur.

Bei einer triangulierten Vesikeloberfläche mit 500 Vertices und einer Biegesteifigkeit von  $\kappa = 5T_0$  läßt sich bei einer Temperatur  $T = T_0$  durch Feldstärken  $\bar{g}_A R_0/T_0 \geq 50$  eine nennenswerte Kontaktfläche erzeugen. Abbildung 6.8 zeigt typische Konfigurationen an das Substrat gepreßter Vesikeln.

Für Feldstärken  $\bar{g}_A \simeq 50T_0/R_0$  ergibt sich im wesentlichen dasselbe Bild wie bei Vorhandensein einer Differenz der Massendichten osmotisch aktiver Teilchen innerhalb und außerhalb der Vesikelmembran. Setzt man jedoch  $\bar{g}_A = 200T_0/R_0$ , so ist für  $2T_0 \leq T \leq 3.5T_0$  der mittlere Abstand zwischen Vesikel und Wand nicht mehr am Zentrum der Kontaktfläche zu finden. In Abbildung 6.9 sind Histogramme für den Abstand  $z$  zwischen der Vesikelmembran und dem Substrat in Abhängigkeit vom Abstands  $r$  des Referenzpunktes auf dem Substrat vom Zentrum der projizierten Kontaktfläche dargestellt. Die Histogrammhöhen  $p(r, z)$  sind wie oben durch  $\sum_i p(r, z_i) = 1$  für jeden Wert  $r$  normiert. Entsprechende Abstandsdichtefunktionen  $h_i(z)$  sind in Abbildung 6.11 gezeigt.

Dieser eben beschriebene Effekt läßt sich wie folgt erklären. Bei kleinen Werten  $T$  haben Fluktuationen in der Kontaktfläche relativ kleine Amplituden, so daß die Kontaktfläche auf Grund der Biegesteifigkeit der Membran relativ wenig Membranfläche aufnehmen kann. Mit steigender Temperatur ist dies jedoch möglich, so daß im Zentrum der Kontaktfläche der mittlere Abstand zum Substrat zunimmt und im Falle großer Werte  $\bar{g}_A$  den mittleren Abstand am Rand der Kontaktfläche überschreitet. Insbesondere wird der Rand durch

<sup>1</sup>Negative Werte bewirken ein Aufsteigen der Vesikel, das ebenso eine Deformation an einem planeren Substrat hervorrufen kann.

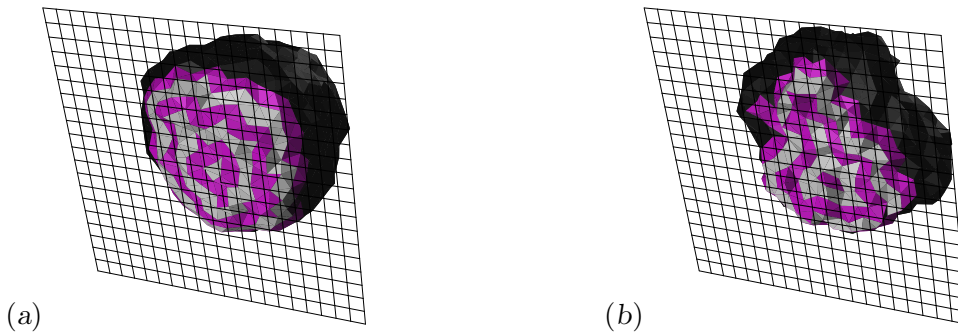


Abbildung 6.8: Charakteristische Konfigurationen einer Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 5T_0$ , die unter Einfluß eines homogenen Schwerfeldes mit  $\bar{g}_A = 200T_0/R_0$  bei einer Temperatur  $T = T_0$  (a) bzw.  $T = 3T_0$  (b) an ein planares Substrat gepreßt wird. Blick durch das Substrat auf die Kontaktfläche.

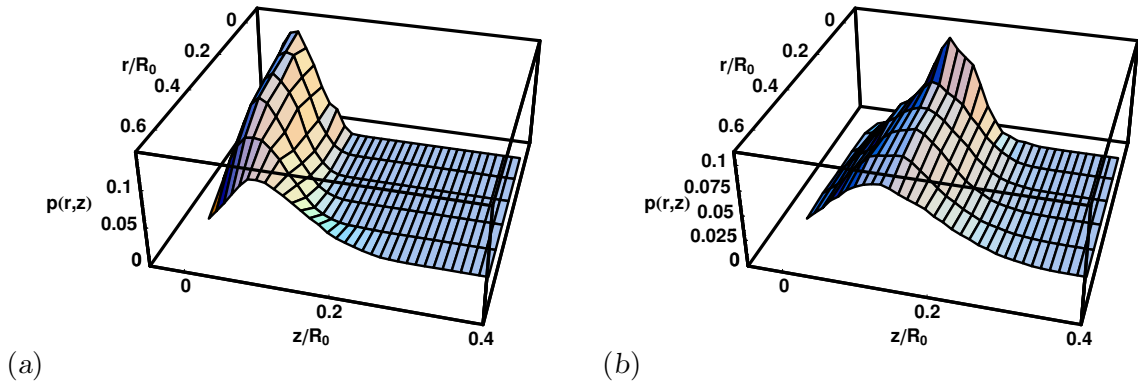


Abbildung 6.9: Histogramme für den Abstand  $z$  zwischen Vesikelmembran und Substrat in Abhängigkeit vom lateralen Abstandes  $r$  zum Zentrum der auf das Substrat projizierten Kontaktfläche für eine Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 5 T_0$ , die unter alleinigem Einfluß der Schwerkraft auf die Membran mit  $\bar{g}_A = 200 T_0/R_0$  gegen das Substrat gedrückt wird. Die Temperatur ist  $T = T_0$  (a) bzw.  $T = 2.5 T_0$  (b).

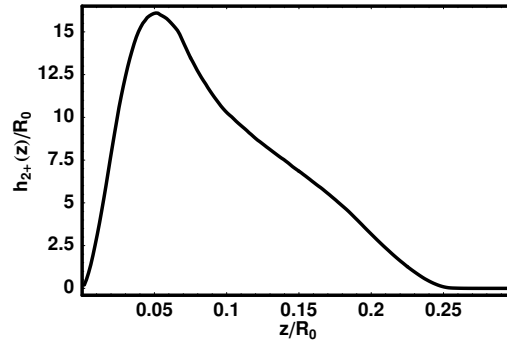


Abbildung 6.10: Dichtefunktion  $h_{2+}(z) \equiv \sum_{i \geq 2} h_i(z)$  für den Abstand  $z$  eines beliebigen Punktes aus dem Inneren der Kontaktfläche zum Substrat. Es wurde eine Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 5 T_0$  im Schwerfeld mit einer Feldstärke  $\bar{g}_A = 200 T_0/R_0$  bei der Temperatur  $T = T_0$  betrachtet.

die dem Substrat abgewandte Vesikelkappe gegen das Substrat gepreßt. Bei hinreichend großen Temperaturen gewinnt die entropische Abstoßung auch am Rand der Kontaktfläche an Gewicht, und dieser Effekt verschwindet wieder.

Auf Grund der inhomogenen Verteilung des Abstands innerhalb der Kontaktfläche ergibt sich zudem folgender für experimentelle Untersuchungen wichtige Effekt. Interessiert man sich für den Abstand eines beliebigen Punktes der Kontaktfläche der Vesikelmembran zum Substrat, so erhält man eine sehr asymmetrische Verteilung, wie sie in Abbildung 6.10 gezeigt ist.

### 6.3.7 Zusammenfassung

In den vorangegangenen Abschnitten konnte gezeigt werden, daß für eine fluide Vesikel, die durch ein Lennard-Jones-Potential mit  $\sigma_{LJ} \ll R_0$  an ein Substrat gebunden ist, oder durch eine Massendichtedifferenz osmotisch aktiver Teilchen innerhalb und außerhalb der Vesikel infolge eines homogenen Schwerfeldes an das Substrat gepreßt wird, die Verteilung der Abstände zwischen der Membran und dem Substrat auf der gesamten Kontaktfläche ortsunabhängig ist und mit zunehmender Temperatur breiter wird. Diese Verbreiterung

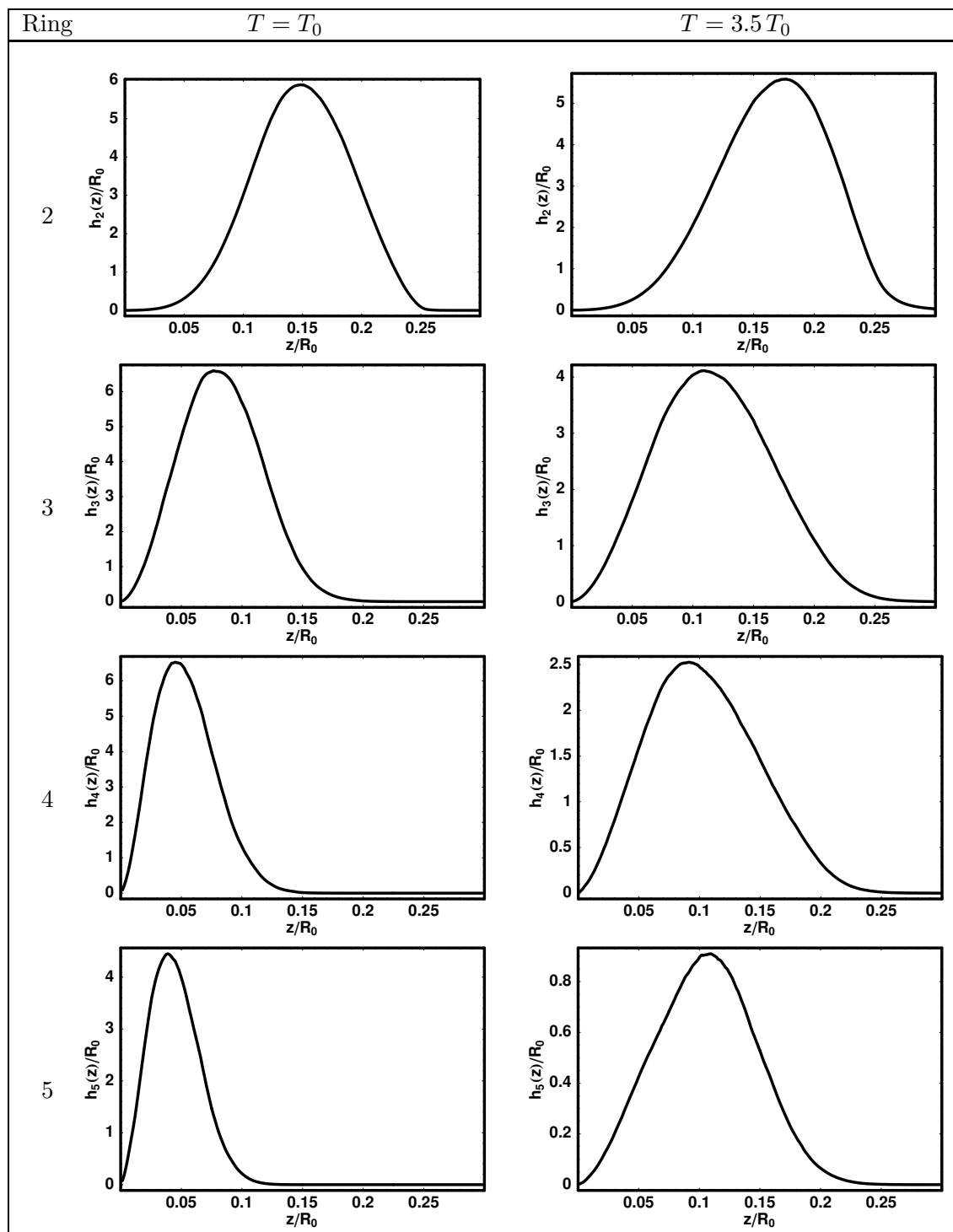


Abbildung 6.11: Abstandsdichtefunktionen  $h_i(z)$  für eine Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 5 T_0$  in einem homogenen Schwerefeld mit  $\bar{g}_A = 200 T_0/R_0$  bei Temperaturen  $T = T_0$  bzw.  $T = 3.5 T_0$  für verschiedene Abstände vom Rand (Ring 2 bis Ring 5).

erfolgt asymmetrisch, wobei mit wachsender Temperatur größere Abstände häufiger auftreten. Wirkt die Schwerkraft lediglich auf die Vesikelmembran, so ist dies nicht mehr der Fall. Die Verteilung der Abstände zum Substrat hängt vom Abstand vom Rand der Kontaktfläche ab, und der minimale mittlere Abstand vom Substrat kann in Abhängigkeit von der Temperatur auch am Rand der Kontaktfläche beobachtet werden.

## 6.4 Vesikeln auf strukturierten Substraten

Im Zusammenhang mit der fortschreitenden Entwicklung der Nanotechnologie besteht ein großes Interesse am Studium von Benetzungssphänomenen. Diese wurden für Flüssigkeiten auf chemisch bzw. oberflächentopographisch strukturierten Oberflächen in den letzten Jahren experimentell und theoretisch untersucht [165, 166, 167, 168, 169]. Während in Experimenten mikrostrukturierte Oberflächen auch zum Festhalten fluider Vesikeln häufig zum Einsatz kommen [15, 17] und eindrucksvolle Experimente zur Benetzung chemisch strukturierter Oberflächen mit Vesikeln durchgeführt wurden [170], existieren nur wenige theoretische Arbeiten zu Membranen und Vesikeln auf strukturierten Oberflächen [171, 172].

Als erster Schritt soll daher in folgenden Abschnitten untersucht werden, welche Formen fluide Vesikeln bei Adhäsion an kreisförmige attraktive Domänen bzw. attraktive Streifen auf planaren Substraten ausbilden sowie wie und wann sich die endliche Ausdehnung der attraktiven Bereiche auf das Adhäsionsverhalten auswirkt. Dazu werden folgende zwei Grenzfälle betrachtet: Zum einen soll angenommen werden, daß die Vesikelmembran eine relativ große Biegesteifigkeit besitzt und osmotische Effekte vernachlässigt werden können, zum anderen soll die umgekehrte Situation untersucht werden.

Vor der Diskussion der Ergebnisse soll jedoch auf wichtige Details in der Realisierung als Monte-Carlo-Simulation eingegangen werden.

### 6.4.1 Umsetzung in Computersimulationen

Die Vesikeloberfläche wurde durch eine Triangulierung mit 500 Vertices diskretisiert.

Zur Berücksichtigung der begrenzten Geometrie des attraktiven Substratbereichs wurde das Adhäsionspotential mit der Gewichtsfunktion  $\alpha(r)$  moduliert (siehe Abbildung 6.12). Dabei ist  $r$  der Abstand der Projektion des Schwerpunkts des Dreiecks von der Mitte des attraktiven Streifens bzw. der attraktiven kreisförmigen Domäne. Für das attraktive Potential wurde das in Gleichung (3.5) beschriebene 9-3-Lennard-Jones-Potential verwendet mit  $\sigma_{LJ} = 0.03 R_0$ .

In der Monte-Carlo-Simulation erfolgten unabhängige Bewegungen einzelner Vertices mit 40% der Schritte und *Bond Flips* mit 60%. Es wurden für jede Wahl von Parametern ca.  $5 \cdot 10^8$  Schritte jeweils zur Äquilibration und zur Ermittlung der Mittelwerte in der Monte-Carlo-Simulation durchgeführt.

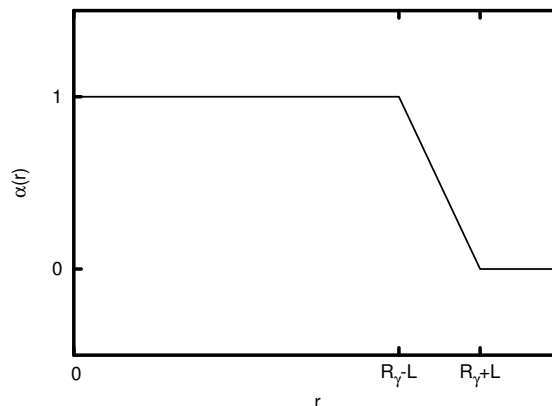


Abbildung 6.12: Schematische Darstellung der Gewichtsfunktion  $\alpha(r)$  in Abhängigkeit vom Abstand  $r$  des Schwerpunkts des betreffenden Dreiecks vom Mittelpunkt des attraktiven Kreises.  $L_0$  ist die mittlere Kantenlänge in der verwendeten Triangulation.



### 6.4.2 Vesikeln mit positiver Biegesteifigkeit ohne Einfluß osmotischer Drücke

Im folgenden werden fluide Vesikeln mit endlicher positiver Biegesteifigkeit ohne Einfluß osmotischer Drücke untersucht.

#### Ein attraktiver Streifen auf einem planaren Substrat

Charakteristische Längen, die die Form einer an einem unendlich langen attraktiven Streifen adhärnten Vesikel beschreiben, sind die in Computer-Simulationen leicht zugängliche maximale Ausdehnung parallel zum Streifen

$$L_{\parallel} = \max_{\mathbf{r}} r_y - \min_{\mathbf{r}} r_y, \quad (6.10)$$

wobei  $\mathbf{r}$  die Ortsvektoren der Vesikelmembran beschreibt, die maximale Ausdehnung senkrecht zum Streifen und parallel zum Substrat

$$L_{\perp} = \max_{\mathbf{r}} r_x - \min_{\mathbf{r}} r_x \quad (6.11)$$

und diese Größe mit Beschränkung auf die Bereiche nahe dem Substrat

$$L_{\downarrow\perp} = 2 \max_{\mathbf{r}, r_z \leq z_m} |r_x|, \quad (6.12)$$

wobei  $z_m = \frac{L_0}{4}$  gesetzt wurde. Diese Größen sind an einem Beispiel in Abbildung 6.13 veranschaulicht.

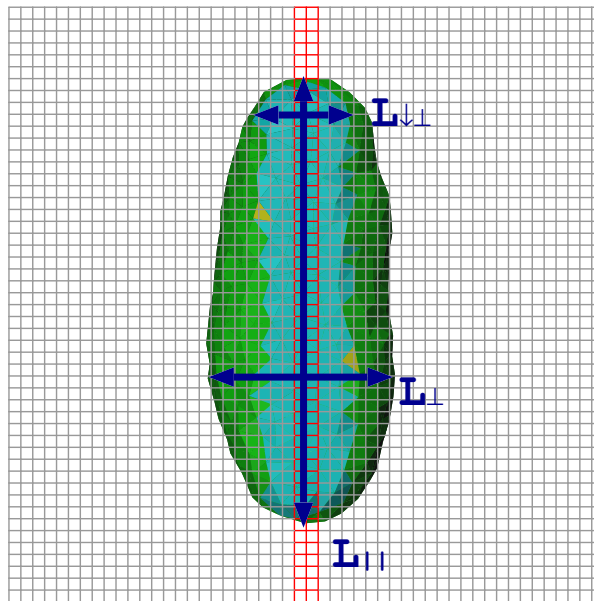


Abbildung 6.13: Eine an einem attraktiven Streifen adhärnte Vesikel mit den die Form beschreibenden charakteristischen Längen. Blick auf die Kontaktfläche (blau) durch das planare Substrat hindurch. Der attraktive Streifen ist rot hervorgehoben.

In Abbildung 6.14 sind diese Größen als Ergebnisse von Monte-Carlo-Simulationen für Streifenbreiten  $L_\gamma = 0.7 R_0$  und  $L_\gamma = 1.1 R_0$  dargestellt. Die Ausdehnung  $L_\parallel$  der Vesikel parallel zum Streifen wächst wie erwartet mit abnehmender Biegesteifigkeit  $\kappa$  sowie mit zunehmender Tiefe  $W_{LJ}$  des attraktiven Potentials des Streifens. Für große Werte  $W_{LJ}$  nimmt der Anstieg der Kurven ab, wie exemplarisch in Abbildung 6.15 gezeigt ist. Der theoretisch mögliche Grenzwert, wobei die Vesikel in Näherung als elliptischer „Pfannkuchen“ mit Achsenlängen  $L_\gamma$  und  $L_{\parallel,max}$  vorliegt, das heißt

$$\frac{1}{2}A_0 = \pi \frac{L_{\parallel,max}}{2} \frac{L_\gamma}{2} \quad (6.13)$$

und damit

$$L_{\parallel,max} \simeq \frac{8 R_0^2}{L_\gamma}, \quad (6.14)$$

ließ sich in den durchgeführten Monte-Carlo-Simulationen nicht annähernd erreichen. Für die komplexe Abhängigkeit der Ausdehnung  $L_\parallel$  von Biegesteifigkeit der Vesikelmembran und Potentialtiefe  $W_{LJ}$  konnte kein einfaches Gesetz gefunden werden.

Mit dem Anwachsen der Länge  $L_\parallel$  der Vesikel parallel zum Streifen erfolgt eine Abnahme der Breite  $L_\perp$  senkrecht zum Streifen. Lediglich für relativ breite Streifen mit  $L_\gamma = 1.1 R_0$  und große Biegesteifigkeiten  $\kappa = 20 T$  läßt sich mit wachsender Potentialtiefe eine adhäsionsinduzierte Verbreiterung der Vesikelform beobachten, wie es bei einem homogenen planaren attraktiven Substrat der Fall ist.

Anhand der Breite  $L_{\perp\perp}$  der Vesikel senkrecht zum attraktiven Streifen unmittelbar über dem Substrat kann schließlich der Einfluß des Vorliegens einer geschlossenen Membran auf deren lokale Form innerhalb der Kontaktfläche studiert werden. Für kleine Biegesteifigkeiten läßt sich die Vesikelform bereits durch relativ schwach attraktive Streifen deformieren, was zu einer Vergrößerung der Breite  $L_{\perp\perp}$  führt. Im Falle größerer Biegesteifigkeiten fällt dieser Effekt kleiner aus. Nach Erreichen der Streifenbreite durch große Potentialtiefen  $W_{LJ}$  ist nur noch eine stärkere Ausdehnung parallel zum Streifen energetisch von Vorteil, so daß der Anteil der Vesikelloberfläche, der über den Streifen hinwegreicht, reduziert wird. Dies ist mit einer Erhöhung der mittleren Krümmung in jenem Bereich verbunden, dem die Biegesteifigkeit entgegen wirkt. Insofern wird bei stark attraktiven Streifen die Breite der Vesikel unmittelbar über dem Substrat mit wachsender Biegesteifigkeit zunehmen. Diese Effekte konnten auch in den durchgeführten Simulationen beobachtet werden (siehe Abbildung 6.14).

Abschließend soll auf die beobachteten Vesikelformen eingegangen werden. Charakteristische Konfigurationen sind in den Abbildungen 6.16 und 6.17 gezeigt.

Ausgehend von annähernd sphärischen Formen für freie bzw. schwach adhärierte Vesikeln bilden sich mit zunehmender Potentialtiefe  $W_{LJ}$  ellipsoidähnliche Formen aus, die schließlich in lange schlauchartige Gebilde übergehen. Lediglich bei großen Biegesteifigkeiten und geringen Streifenbreiten ließen sich hiervon abweichende Formen beobachten, bei denen die Kontaktfläche von Vesikelmembran und Substrat in der Mitte tailliert ist (Abbildung 6.16(d)). Die große Biegesteifigkeit verhindert bei den betrachteten Potentialtiefen  $W_{LJ} \simeq 12000 T/R_0^2$  eine Ausbildung von Kappenstrukturen mit einem Radius von der halben Streifenbreite an den Vesikelenden.

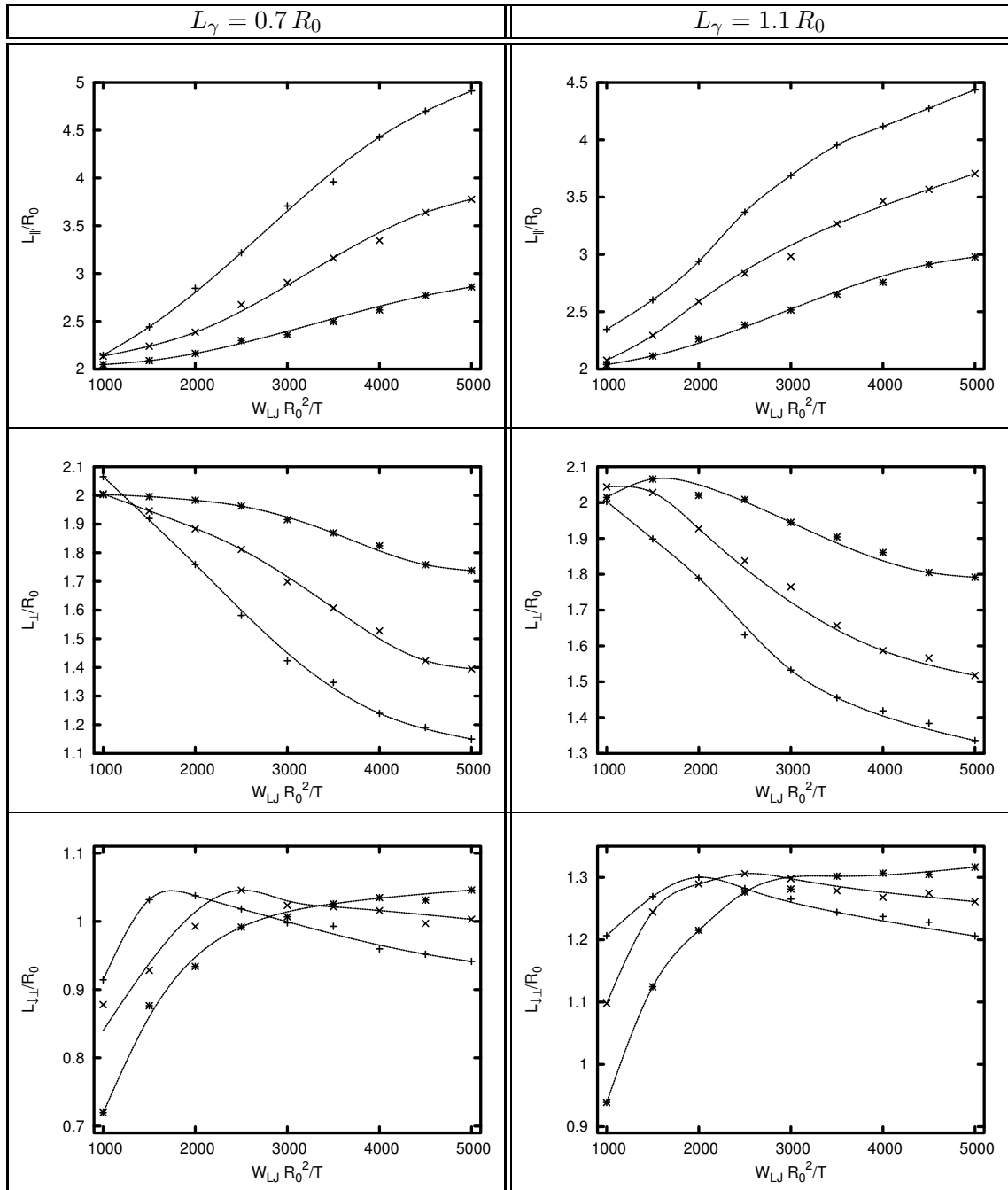


Abbildung 6.14: Ausdehnung der Vesikel  $L_{||}$  parallel zum Streifen,  $L_{\perp}$  senkrecht zum Streifen und  $L_{\perp\perp}$  senkrecht zum Streifen nahe dem Substrat ( $z \leq L_0/4$ ) in Abhängigkeit der Potentialtiefe  $W_{LJ}$  für Streifenbreiten  $L_\gamma = 0.7 R_0$  und  $L_\gamma = 1.1 R_0$  und Biegesteifigkeiten  $\kappa = 5T$  (+),  $\kappa = 10T$  (x),  $\kappa = 20T$  (\*) der Vesikelmembran.

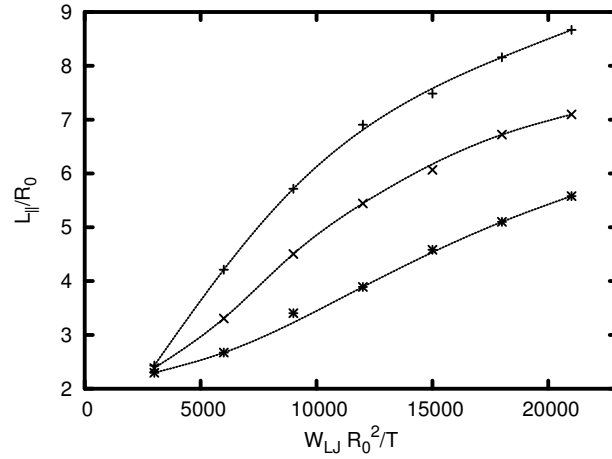


Abbildung 6.15: Grenzverhalten der Ausdehnung  $L_{||}$  der Vesikel parallel zum Streifen bei sehr stark attraktiven Potentialen für  $L_\gamma = 0.5 R_0$  und Biegesteifigkeiten  $\kappa = 5T$  (+),  $\kappa = 10T$  (x) und  $\kappa = 20T$  (\*).

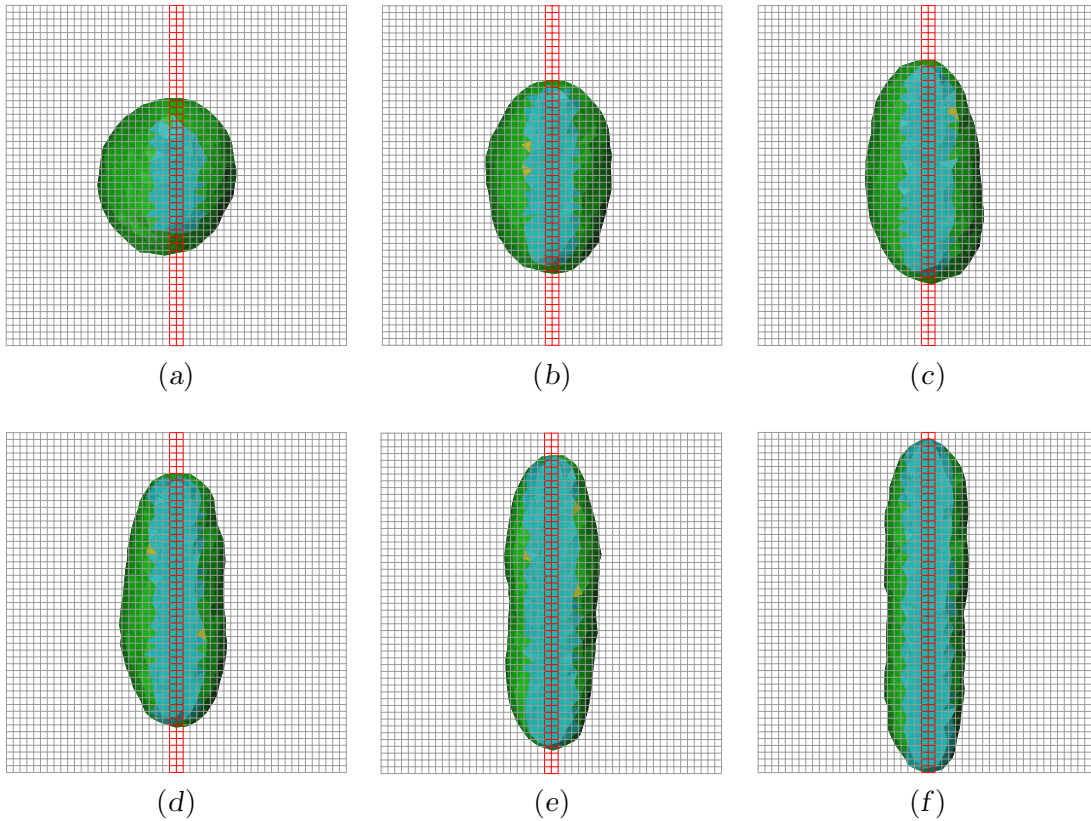


Abbildung 6.16: Charakteristische Konfigurationen für eine Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 20T$  für einen unendlich langen attraktiven Streifen der Breite  $L_\gamma = 0.3 R_0$  und Potentialtiefe  $W_{LJ} = 3000 T/R_0^2$  (a),  $W_{LJ} = 6000 T/R_0^2$  (b),  $W_{LJ} = 9000 T/R_0^2$  (c),  $W_{LJ} = 12000 T/R_0^2$  (d),  $W_{LJ} = 15000 T/R_0^2$  (e) und  $W_{LJ} = 18000 T/R_0^2$  (f). Blick durch das Substrat auf die Kontaktfläche. Das Substrat ist durch ein Raster dargestellt, der attraktive Bereich ist rot hervorgehoben. Das Überstehen der Kontaktfläche (blau) über den attraktiven Streifen hinaus ist durch die Diskretisierung mit Verwendung der Gewichtsfunktion  $\alpha$  bedingt.

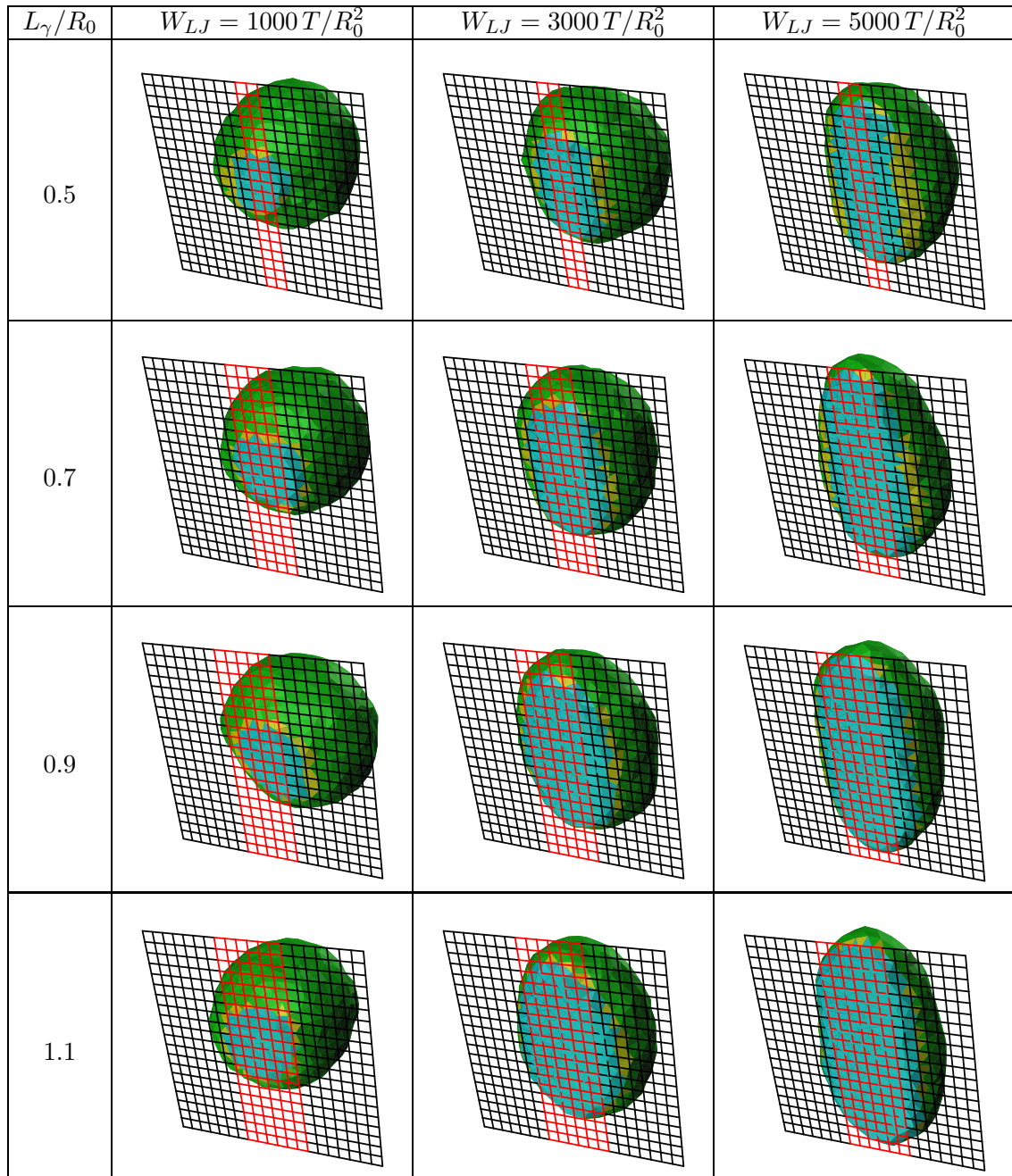


Abbildung 6.17: Charakteristische Konfigurationen einer Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 20T$  an einem attraktiven Streifen unterschiedlicher Breite  $L_\gamma$  für verschiedene Potentialtiefen  $W_{LJ}$ . Der attraktive Streifen innerhalb des mit einem Raster angedeuteten planaren Substrats ist in rot hervorgehoben. Die Kontaktfläche der Vesikel mit dem attraktiven Streifen ist blau dargestellt und darüber hinausreichende Bereiche der Membran, die einen Abstand  $L_0/4$  zum Substrat nicht überschreiten, in gelb.

### Eine kreisförmige attraktive Domäne auf einem planaren Substrat

Zur räumlichen Fixierung fluider Vesikeln auf Substraten bieten sich zirkuläre attraktive Domänen an [15]. Hierdurch wird jedoch auch die Form der Vesikel beeinflusst. Die stationären Vesikelformen in einem Kontaktpotential sind jedoch nur für homogene Substrate bekannt [93, 172]. Für endliche Temperaturen wurden die im Falle einer attraktiven zirkulären Domäne auftretenden Vesikelformen im Rahmen der vorliegenden Arbeit mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen untersucht, deren Ergebnisse im folgenden diskutiert werden.

Da das verwendete Lennard-Jones-Potential mit einer gewählten Längenskala  $\sigma_{LJ} = 0.03 R_0$  nur für geringe Abstände der Membran vom Substrat signifikante Beiträge zur Konfigurationsenergie liefert, ermöglicht dies einen Vergleich mit einem Kontaktpotential wie in Abschnitt 2.2, wobei als Potentialtiefe das Minimum des in den Simulationen verwendeten Lennard-Jones-Potentials gewählt wurde

$$W = -\frac{\sqrt{\frac{5}{2}}}{18} W_{LJ} \approx -0.088 W_{LJ}. \quad (6.15)$$

Im Falle eines homogenen Substrats ergibt sich ein Kontaktradius von

$$R^* = \sqrt{\frac{\kappa}{2W}}. \quad (6.16)$$

Bei der Kontur der als rotationssymmetrisch angenommenen Vesikel ist  $R^*$  der Radius des Schmiegekreises am Rand der Kontaktfläche. Bei nur endlich ausgedehnten, kreisförmigen, attraktiven Domänen ist ein größerer Kontaktradius als der oben angegebene zu erwarten.

Im Falle rotationssymmetrischer Vesikeln, deren Kontaktfläche planar ist, gilt

$$R^* = 1/(2M) \quad (6.17)$$

am Rand der Kontaktfläche. Unter diesen Annahmen erfolgte die Berechnung der Kontaktkrümmung in den Simulationen.

Es wurden Simulationen für Biegesteifigkeiten im Bereich  $3 \leq \frac{\kappa}{T} \leq 30$  für Domänenradien  $R_\gamma$  mit  $0.5 \leq \frac{R_\gamma}{R_0} \leq 1.5$  und verschiedenen Potentialtiefen  $W_{LJ}$  durchgeführt. Die Abbildungen 6.18 und 6.19 zeigen die resultierenden Verläufe des Radius  $R_{A^*}$  der Kontaktfläche und des Kontaktradius  $R^*$ . In Abbildung 6.20 sind charakteristische Konfigurationen für die gewählten Parameterbereiche dargestellt. Wie zu erwarten war, nimmt der Radius  $R_{A^*}$  der Kontaktfläche zu bei wachsendem Domänenradius  $R_\gamma$  oder mit abnehmender Biegesteifigkeit  $\kappa$ . Währenddessen nimmt der Kontaktradius ab. Im Vergleich zur Adhäsion an einem attraktiven Streifen mit demselben attraktiven Potential wird jedoch der Grenzfall für die maximale Ausdehnung der Kontaktfläche (hier deren Radius)

$$R_{A^*,max} = \min \left\{ R_\gamma, \sqrt{2} \right\} \quad (6.18)$$

bereits bei vergleichsweise kleinen Potentialtiefen  $W_{LJ}$  annähernd erreicht.

Ergibt sich ein mittlerer Radius  $R_{A^*}$  der Kontaktfläche, der kleiner ist als der Domänenradius  $R_\gamma$ , so kann sich die Vesikel auf der Domäne bewegen, wobei ein Histogramm für den Abstand vom Zentrum der Domäne den Bindungsgrad charakterisiert. Dieses Histogramm liefert insbesondere die Kraft, die nötig ist, um die Vesikel vom Zentrum der Domäne wegzubewegen.

Hinsichtlich des Kontaktradius ist für große Potentialtiefen  $W_{LJ}$  und große Domänenradien  $R_\gamma$  eine Übereinstimmung mit dem Wert für ein Kontaktpotential mit Tiefe  $W$  zu

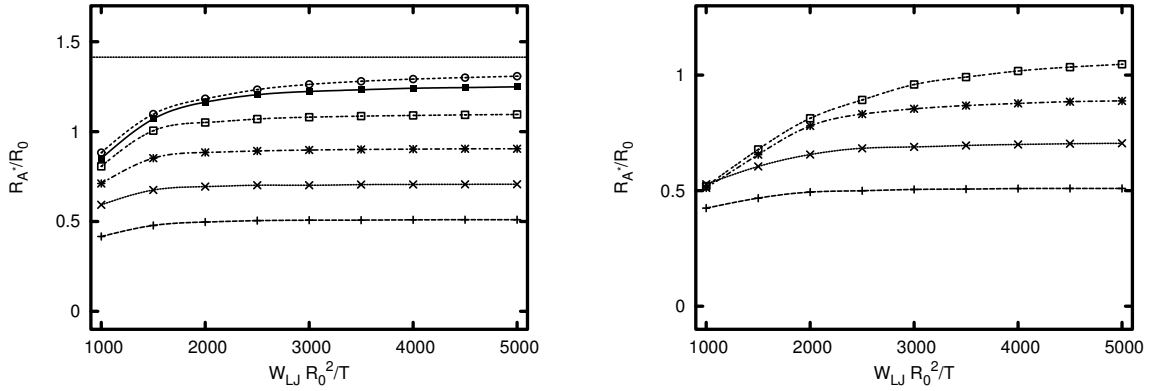


Abbildung 6.18: Radius  $R_{A^*}$  der Kontaktfläche einer an einer kreisrunden attraktiven Domäne adhärenen fluiden Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 3T$  (links) bzw.  $\kappa = 30T$  (rechts). Der Radius der Domäne betrug  $R_\gamma = 0.5 R_0$  (+),  $R_\gamma = 0.7 R_0$  ( $\times$ ),  $R_\gamma = 0.9 R_0$  (\*),  $R_\gamma = 1.1 R_0$  ( $\square$ ),  $R_\gamma = 1.3 R_0$  ( $\blacksquare$ ) bzw.  $R_\gamma = 1.5 R_0$  ( $\odot$ ). In der linken Grafik ist zudem der Grenzfall  $\bar{R}_{A^*} = \sqrt{2}$  eingezeichnet, der einem „Pfannkuchen“ entspricht.

erwarten. Unter Berücksichtigung der Gewichtsfunktion  $\alpha$  bei der Ermittlung der Kontaktfläche widersprechen die Simulationsergebnisse (siehe Abbildung 6.19) dieser Erwartung nicht. Diese ungefähre Übereinstimmung bleibt bei einer Biegesteifigkeit  $\kappa = 30T$  der Vesikelmembran bis hin zu Potentialtiefen von  $W_{LJ} = 1000 T/R_0^2$  erhalten. Weiterhin findet man für große Werte  $W_{LJ}$  einen linearen Zusammenhang zwischen Kontaktradius  $R^*$  und Domänenradius  $R_\gamma$  für Radien mit  $0.5 \leq \frac{R_\gamma}{R_0} \leq 1.1$ .

### 6.4.3 Vesikeln mit geringer Biegesteifigkeit und konstantem Volumen

Im folgenden soll angenommen werden, daß die Konzentrationen an osmotisch aktiven Teilchen in und außerhalb der Vesikel so groß sind, daß das Vesikelvolumen als konstant angenommen werden kann. Die Biegesteifigkeit wurde als sehr klein angenommen und in den folgenden Betrachtungen  $\kappa = 0.1T$  gesetzt.

Analoge Simulationen wie im vorangegangenen Abschnitt zeigen unabhängig von den osmotischen Bedingungen und den gewählten Potentialtiefen eine stark fluktuierende Vesikeloberfläche mit einer Kugelkappe als mittlerer Form (siehe Abbildungen 6.21 bis 6.24). Im Falle eines relativ kleinen Domänenradius  $R_\gamma = 0.5 R_0$  ist die Höhe der Kugelkappe sogar gänzlich unabhängig von der Potentialtiefe  $W_{LJ}$ .

Vergleicht man den Radius der Kontaktfläche zwischen Vesikel und Substrat für verschiedene Domänenradien  $R_\gamma$ , wie dies in Abbildung 6.25 dargestellt ist, so fällt auf, daß der Radius  $R_{A^*}$  im Falle  $R_\gamma = 0.5 R_0$  mit wachsender Konzentration  $c_{ex}$  osmotisch aktiver Teilchen außerhalb der Vesikel abnimmt, während er für  $R_\gamma = 1.1 R_0$  zunimmt. Dies läßt sich damit erklären, daß im Falle großer Werte  $c_{ex}$ , also kleiner reduzierter Volumina, lokale Membranfluktuationen ermöglicht werden, die für kleine  $R_\gamma$  eine effektive Abstoßung vom Substrat bewirken und die Kontaktfläche reduzieren. Andererseits begünstigt ein verringertes reduziertes Volumen adhäsionsinduzierte Deformationen der Vesikel, die dieser eine Kugelkappengestalt verleihen, zur Ausbildung großer Kontaktzonen im Fall großer Domänenradien  $R_\gamma$ .

Daß lokale Formfluktuationen im Falle endlicher Domänengrößen die Kugelkappengestalt stabilisieren, kann man wie folgt begründen. Die Kugelkappe ist bei gegebener planarer Grundfläche und gegebenem Volumen die Form geringster projizierter Fläche. Damit steht ein Maximum an zusätzlicher Fläche für Fluktuationen im nichtadhären-

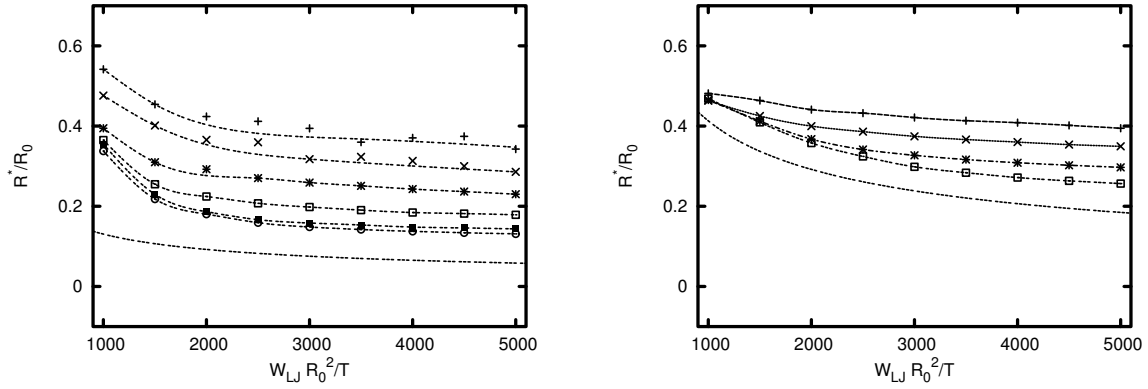


Abbildung 6.19: Kontaktradius  $R^*$  einer an einer kreisrunden attraktiven Domäne adhären-  
ten fluiden Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 3T$  (links) bzw.  $\kappa = 30T$  (rechts). Der Radius  
der Domäne betrug  $R_\gamma = 0.5 R_0$  (+),  $R_\gamma = 0.7 R_0$  ( $\times$ ),  $R_\gamma = 0.9 R_0$  (\*),  $R_\gamma = 1.1 R_0$  ( $\square$ ),  
 $R_\gamma = 1.3 R_0$  ( $\blacksquare$ ) bzw.  $R_\gamma = 1.5 R_0$  ( $\odot$ ). Weiterhin ist jeweils der Kontaktradius für ein  
Kontaktpotential mit einer Tiefe gemäß Gleichung (6.15) eingezeichnet.

ten Teil der Vesikelmembran zur Verfügung. Diese ermöglichten Fluktuationen tragen mit  
ihrem statistischen Gewicht zur Stabilisierung der Kugelkappengestalt bei.

Setzt man für die Biegesteifigkeit einen größeren Wert ein, zum Beispiel  $\kappa = 10T$ , so  
verschwindet diese fluktuationsbedingte Stabilisierung der Kugelkappenform, wie Abbil-  
dung 6.26 zeigt.



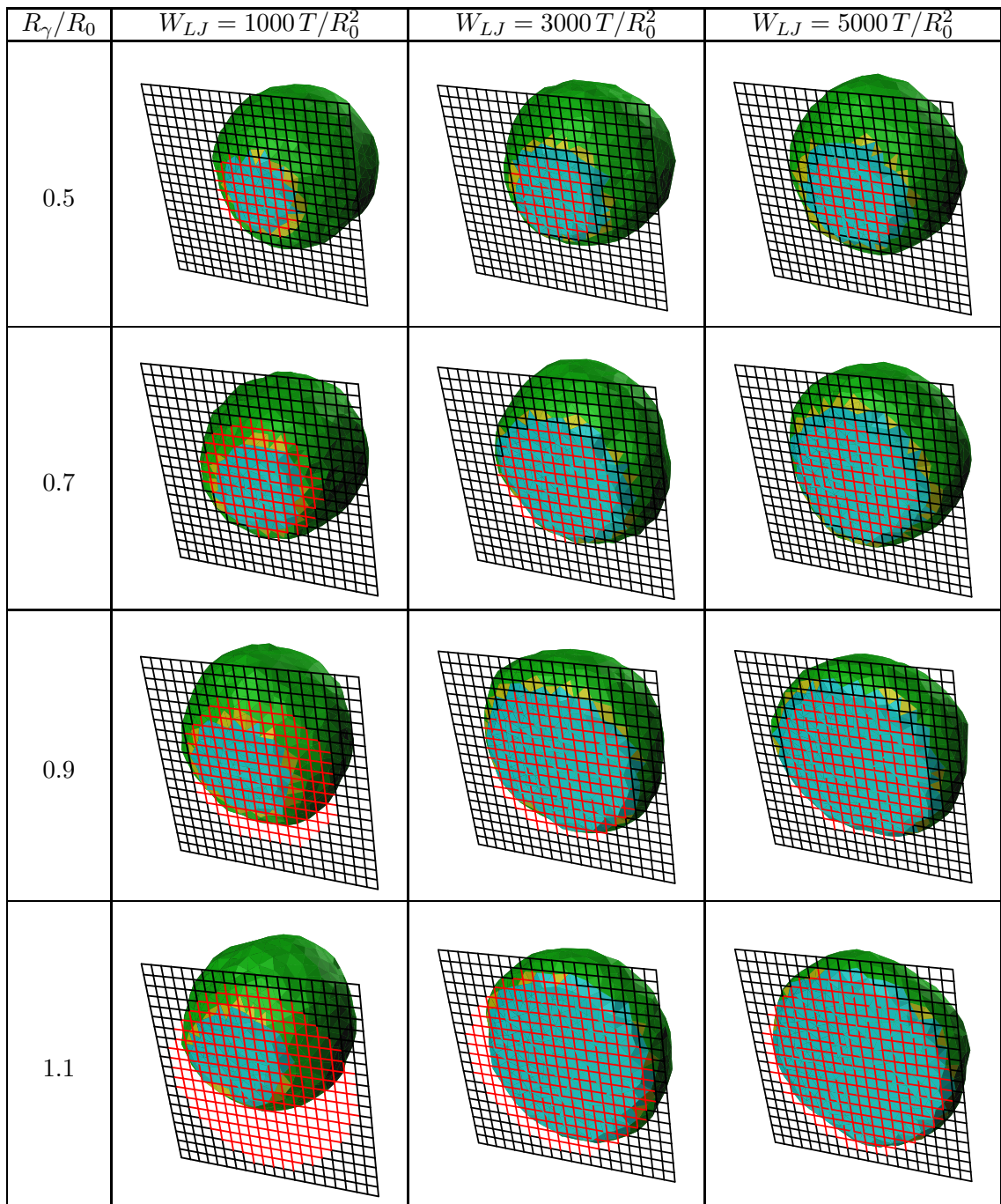


Abbildung 6.20: Typische Konfigurationen einer fluiden Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 20T$ , die an einer kreisrunden attraktiven Domäne mit Radius  $R_\gamma$  adhärirt ist. Sowohl der Domänenradius  $R_\gamma$  als auch die Tiefe  $W_{LJ}$  des attraktiven Potentials werden variiert.

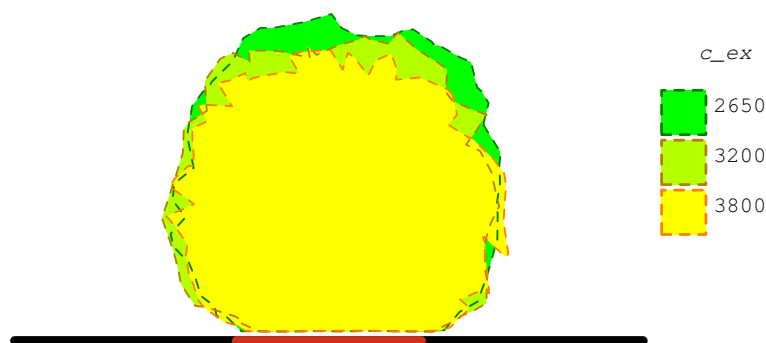


Abbildung 6.21: Typische Konfiguration einer fluiden Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 0.1 T$  und  $N = 10000$  osmotisch aktiven Teilchen im Vesikelinneren an einer kreisförmigen attraktiven Domäne mit Radius  $R_\gamma = 0.5 R_0$  und Potentialtiefe  $W_{LJ} = 5000 T/R_0^2$  bei verschiedenen Konzentrationen  $c_{ex}$  an osmotisch aktiven Teilchen außerhalb der Vesikel. Der Schnitt durch die Vesikel erfolgt senkrecht zum Substrat durch den Schwerpunkt des Vesikelvolumens und durch das Zentrum der kreisförmigen attraktiven Domäne.

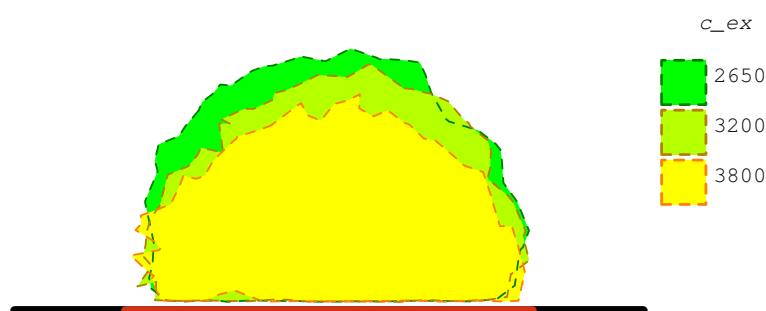


Abbildung 6.22: Hier wird abweichend zur obigen Abbildung  $R_\gamma = 1.1 R_0$  und  $W_{LJ} = 3000 T/R_0^2$  betrachtet.

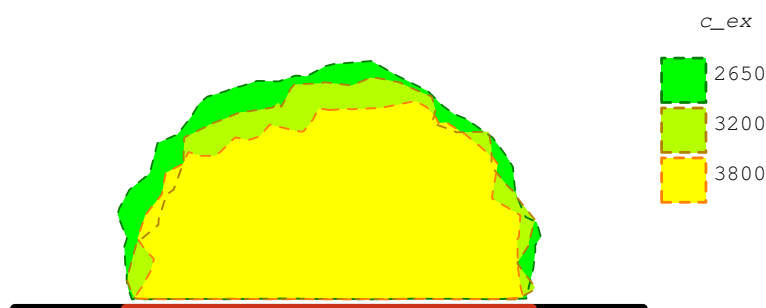


Abbildung 6.23: Charakteristische Konfigurationen für  $R_\gamma = 1.1 R_0$  und  $W_{LJ} = 5000 T/R_0^2$ .

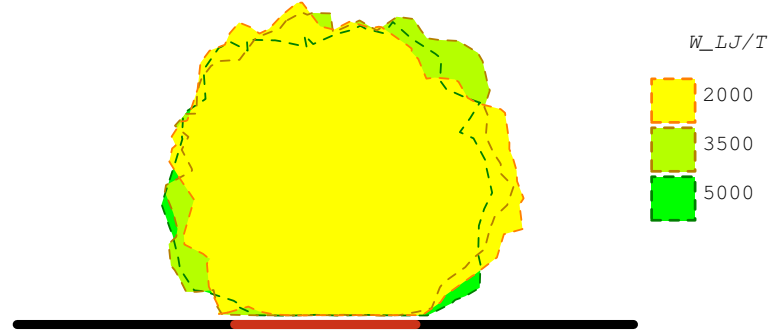


Abbildung 6.24: Hier sind die osmotischen Bedingungen durch  $N = 10000$  und  $c_{ex} = 3200 R_0^{-3}$  vorgegeben, ferner der Domänenradius durch  $R_\gamma = 0.5 R_0$ . Die Tiefe  $W_{LJ}$  des attraktiven Potentials wird variiert.

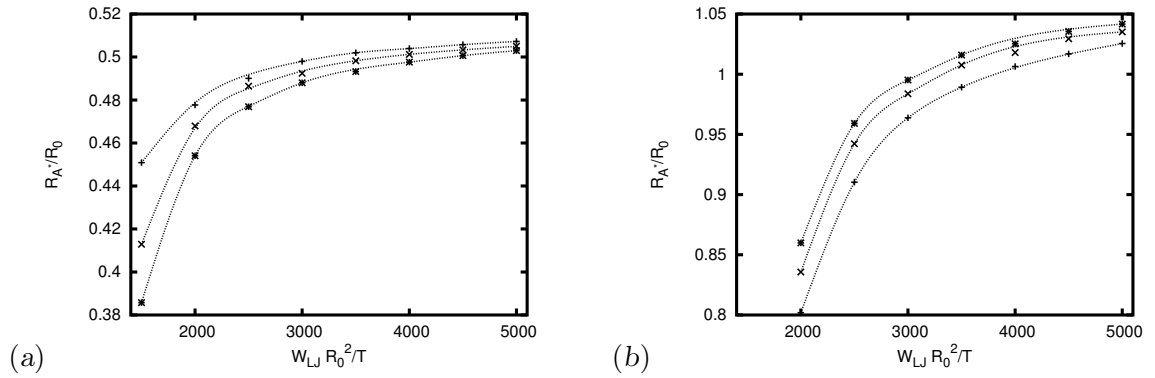


Abbildung 6.25: Radius  $R_{A^*}$  der mittleren projizierten Kontaktfläche bei einer Biegesteifigkeit von  $\kappa = 0.1 T$ ,  $N = 10000$  osmotisch aktiven Teilchen im Vesikelinneren für Radien  $R_\gamma = 0.5 R_0$  (a) bzw.  $R_\gamma = 1.1 R_0$  (b) der attraktiven kreisförmigen Domäne mit Potentialtiefe  $W_{LJ}$ . Die Konzentration osmotisch aktiver Teilchen beträgt  $c_{ex} = 2650 R_0^{-3}$  (+),  $c_{ex} = 3200 R_0^{-3}$  (x) bzw.  $c_{ex} = 3800 R_0^{-3}$  (\*).

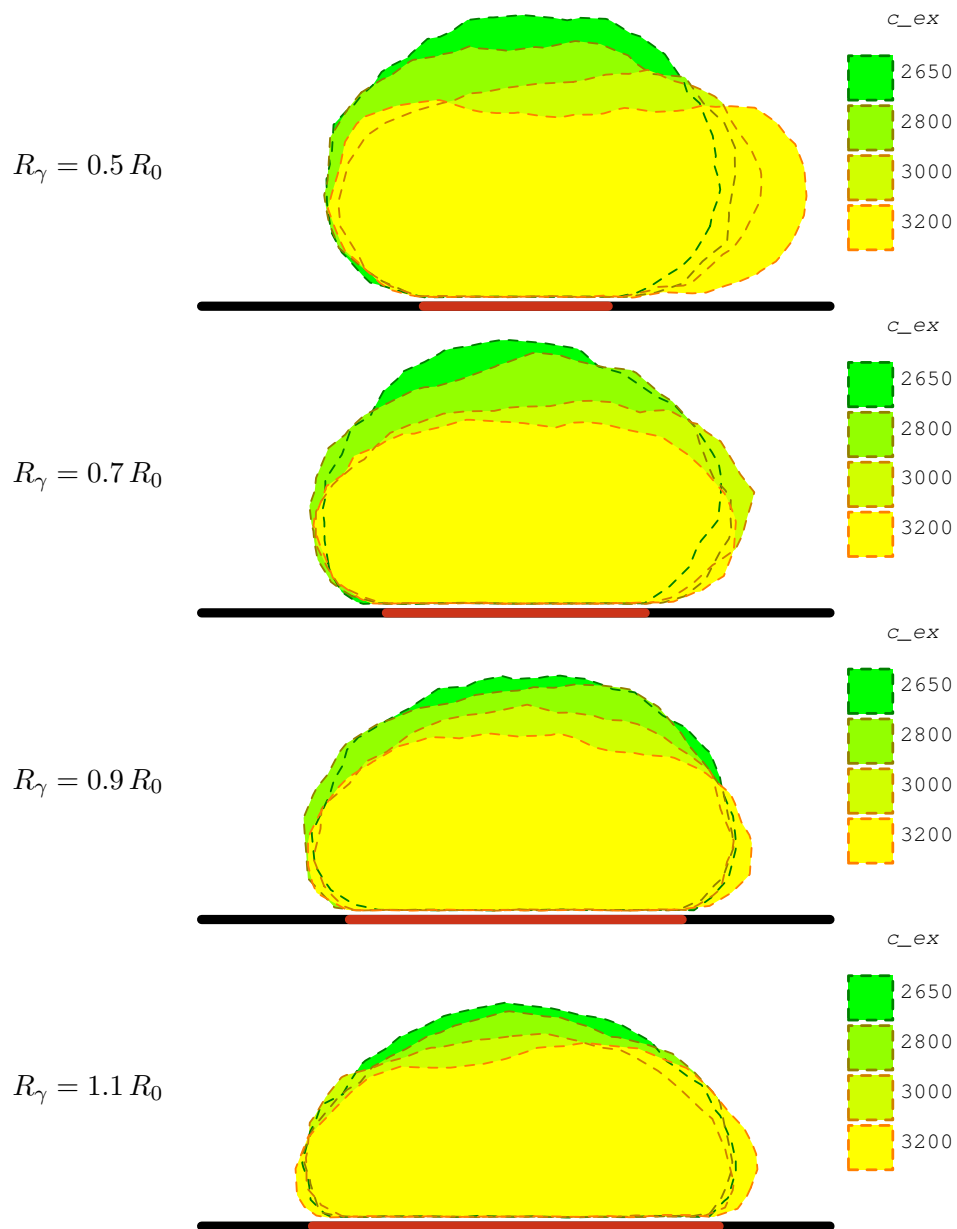


Abbildung 6.26: Schnitte durch typische Konfigurationen einer fluiden Vesikel mit einer Biegesetefigkeit  $\kappa = 10T$ , einer Anzahl  $N = 10000$  an osmotisch attraktiven Teilchen in der Vesikel und einem Potentialtiefe  $W_{LJ} = 5000 T/R_0^2$  im Bereich der attraktiven Domäne. Die Schnitte verlaufen durch den Schwerpunkt des Vesikelvolumens und durch den Mittelpunkt der kreisförmigen attraktiven Domäne und sind senkrecht zum Substrat.

#### 6.4.4 Ausblick

Im Anschluß an die Untersuchung, in welcher Weise die endlichen Abmessungen attraktiver Domänen Einfluß auf das Adhäsionsverhalten fluider Vesikeln an attraktive Substrate haben, stellt sich die Frage, wie Vesikeln durch attraktive Bereiche in einem planaren Substrat fixiert werden können (siehe Abbildung 6.27(a)). Darunter soll verstanden werden, daß spezielle räumliche Koordinaten nur noch schwach von ihrem Mittelwert abweichen. Dies betrifft insbesondere den Schwerpunkt des Vesikelvolumens.

Für eine derartige Fixierung einer Vesikel an einem vertikalen Substrat (siehe Abbildung 6.27(b)), wobei der Beitrag des homogenen Schwerfeldes zu berücksichtigen ist, ist eine hinreichend große Barriere in der freien Energie in bezug auf die Vertikalkoordinate des Schwerpunkts nötig.

In beiden Anwendungen ist die Abhängigkeit von der Temperatur, von der Tiefe des attraktiven Potentials und von den Abmessungen des attraktiven Bereichs von Interesse.

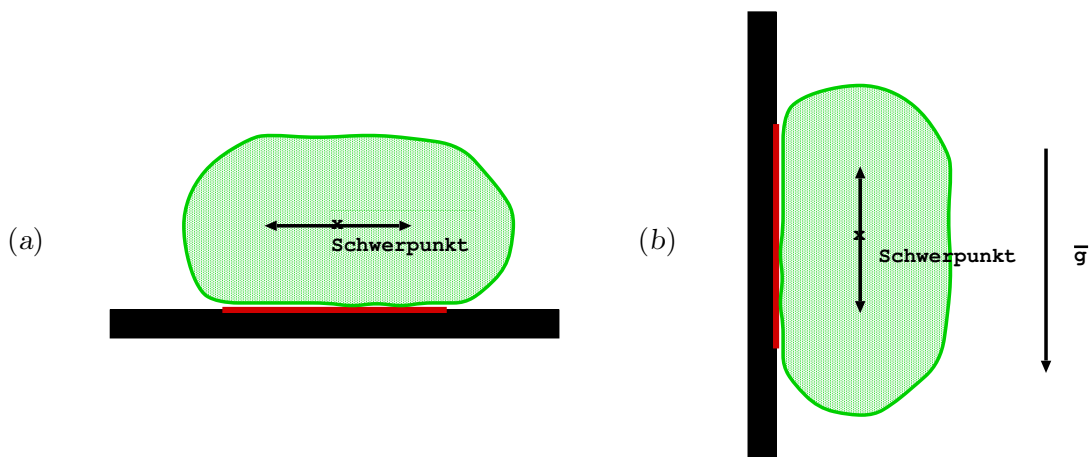


Abbildung 6.27: Eine fluide Vesikel, die an einer attraktiven Domäne (rot) eines planaren Substrats adhärert ist. In einer vertikalen Anordnung (b) hat das homogene Schwerfeld (mit Feldstärke  $\bar{g}$ ) entscheidenden Einfluß. Der Verteilung der Koordinaten des Schwerpunkts des Vesikelinneren beschreibt die Bindungsstärke der Vesikel.

## 6.5 Oberflächenspannung

Auf Grund des sehr großen Flächenkompressibilitätsmoduls  $k$  wurde die mikroskopische Vesikeloberfläche in theoretischen Untersuchungen stets als konstant angenommen. Dies wurde in den entsprechenden Rechnungen entweder durch die Einführung eines entsprechenden Lagrange-Multiplikators  $\Sigma$  für die exakte Einhaltung einer konstanten Fläche<sup>2</sup> (siehe etwa Seifert et al. [93, 64, 87]) im Freie-Energie-Funktional

$$F = E_{el} + \Sigma A + PV \quad (6.19)$$

mit

$$\Sigma = - \left. \frac{\partial E_{el}}{\partial A} \right|_V \quad \text{und} \quad P = - \left. \frac{\partial E_{el}}{\partial V} \right|_A$$

oder in abgeschwächter Form<sup>3</sup> für die Einhaltung konstanter Mittelwerte der Amplitudenquadrate der Formfluktuationen [148, 173] innerhalb des statistischen Gewichts [148]

$$\exp \left( - \frac{E_{el} + \bar{\Sigma} A}{T} \right) \quad (6.20)$$

berücksichtigt.

Taupin et al. [174] sowie Lipowsky und Seifert [152] nehmen für eine Erzeugung von Poren in der Vesikelmembran eine Bildungsenergie

$$E_{pore} = 2\pi\Sigma_e R_p - \pi R_p^2 \Sigma \quad (6.21)$$

an, wobei  $\Sigma_e$  die Linienspannung für die Erzeugung des Porenrandes ist. Die hiermit verbundene Energiebarriere

$$\Delta E_{pore} = \pi \frac{\Sigma_e^2}{\Sigma}, \quad (6.22)$$

die insbesondere beim Reißen der Vesikelmembran zu überwinden ist, nimmt mit wachsender Oberflächenspannung  $\Sigma$  ab und kann schließlich durch thermische Aktivierung überwunden werden.

Die für das Reißen notwendigen Oberflächenspannungen lassen sich durch osmotische Inflation der Vesikel erzeugen [174]. Im Falle adhärierter Vesikeln existiert ein von der Tiefe des entsprechenden attraktiven Potentials abhängiger kritischer Radius, ab dem ein Reißen in der oben beschriebenen Weise beobachtet wird [152, 175].

Werden Fluktuationen der Vesikelform außer Acht gelassen, so stellt sich nicht die Frage, ob sich die Oberflächenspannung auf die intrinsische Fläche  $A$  oder auf eine näher zu definierende projizierte Fläche bezieht. Dabei wird implizit vorausgesetzt, daß Energien für Änderungen der Lipiddichte in der Membran wesentlich größer sind als für elastische Deformationen der fluiden Vesikel (siehe Seifert und Langer [86]). Aus diesem Grunde soll angenommen werden, daß sich eine Oberflächenspannung  $\sigma$  als Ableitung der eingeschränkten freien Energie  $F(A)$  (die entsprechend Gleichung (4.2) definiert wird) in bezug auf die intrinsische Vesikeloberfläche  $A$  bei fester Anzahl  $N^+ + N^-$  von Lipidmolekülen definieren läßt, das heißt

$$\sigma \equiv - \frac{\partial F}{\partial A}, \quad (6.23)$$

die auf der gesamten Vesikeloberfläche konstant ist. Die Relaxation der intrinsischen Fläche gegenüber dieser Spannung bei konstanter Anzahl von Lipidmolekülen liefert die treibende Kraft für das Reißen der Vesikelmembran.

<sup>2</sup>Minimierung der Biegeenergie im *Spontaneous Curvature* Modell bei Vernachlässigung von Formfluktuationen.  $P$  ist ein entsprechender Lagrange-Multiplikator für das vorgegebene Volumen.

<sup>3</sup>zur Unterscheidung mit dem Symbol  $\bar{\Sigma}$  bezeichnet

In Simulationen, in denen die fluide Vesikel wie in Kapitel 3 beschrieben wird, läßt sich diese Oberflächenspannung wie folgt untersuchen. Die intrinsische Vesikeloberfläche  $A$  ist durch  $A_{min} \leq A \leq A_{max}$  festgelegt. Bei hinreichend großen osmotischen Drücken oder Potentialtiefen eines attraktiven Potentials, die die Vesikeloberfläche spannen, ist  $(A_{max} - A)/A_{max} \ll 1$  anzunehmen. Ein Reißen der Vesikelmembran ist nicht vorgesehen. Mit Hilfe der in Abschnitt 4.5 beschriebenen Histogrammmethoden läßt sich dann

$$\sigma = - \left. \frac{\partial F}{\partial A} \right|_{A=A_{max}} \quad (6.24)$$

auswerten. Im Grenzfall kleiner Differenzen  $(A_{max} - A_{min})/A_{max}$  kann die so ermittelte Oberflächenspannung auch durch folgenden Ausdruck approximiert werden

$$\sigma = \frac{1}{R_0^2} \int_{A=A_{min}}^{A_{max}} - \frac{\partial F}{\partial A} p(A) dA \quad (6.25)$$

$$= \frac{T}{R_0^2} \int_{A=A_{min}}^{A_{max}} \frac{\partial \ln p}{\partial A} p(A) dA \quad (6.26)$$

$$= \frac{T}{R_0^2} (p(A_{max}) - p(A_{min})), \quad (6.27)$$

wobei  $p(A)$  die Wahrscheinlichkeitsdichte für ein Vorfinden einer intrinsischen Vesikeloberfläche  $A$  mit  $A_{min} \leq A \leq A_{max}$  ist und durch

$$\frac{1}{R_0^2} \int_{A=A_{min}}^{A_{max}} p(A) dA = 1 \quad (6.28)$$

normiert ist. Im Gegensatz zu Gleichung (6.24) lassen sich mit (6.27) spannungsfreie Zustände in Monte-Carlo-Simulationen mit größerer Zuverlässigkeit detektieren (siehe Abschnitt 7.1.2).

Ist durch experimentelle Untersuchungen die Reißspannung  $\sigma_c$  einer Vesikel bekannt, so können die kritischen Parameter für Tiefe eines attraktiven Potentials, Temperatur und osmotischen Druck, ab denen die Vesikelmembran reißt, mittels Simulationen unter Verwendung von Gleichung (6.24) abgeschätzt werden.

### Simulationsergebnisse

Im folgenden werden die Ergebnisse derartiger Simulationen einer triangulierte fluide Vesikel mit 500 Vertices diskutiert. Triangulierungen mit 300 bzw. 400 Vertices ergeben ähnliche Ergebnisse, während Simulationen für Vertexanzahlen größer als 500 bei sinnvollen Rechenzeiten keine vernünftigen Ergebnisse liefern.

Veränderungen der Temperatur  $T$  und der Potentialtiefe  $W_{LJ}$  (mit konstanter charakteristischer Länge  $\sigma_{LJ} = 0.03 R_0$ ) bei fester Biegesteifigkeit  $\kappa = 10 T_0$  ergeben Oberflächenspannungen wie in Abbildung 6.28 dargestellt. Im Falle großer Potentialtiefen erhält man folgende Abhängigkeit der Oberflächenspannung von den Parametern

$$\sigma R_0^2 \simeq -2.35 \kappa + 0.0375 R_0^2 W_{LJ} - 80 T. \quad (6.29)$$

Das heißt, die Oberflächenspannung läßt sich sowohl durch ein tieferes Potential als auch durch Reduzierung der Temperatur oder der Biegesteifigkeit erhöhen.

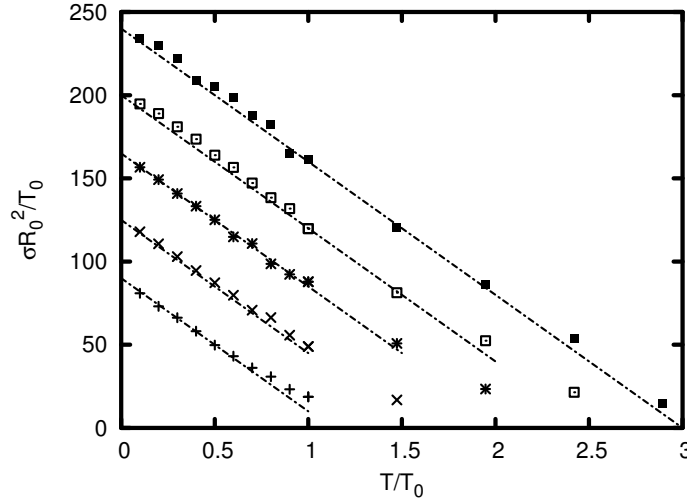


Abbildung 6.28: Die Oberflächenspannung  $\sigma$  in reduzierten Einheiten als Funktion der Temperatur  $T$  für verschiedene Potentialtiefen  $W_{LJ}$ :  $W_{LJ} = 3000 T_0 / R_0^2$  (+),  $W_{LJ} = 4000 T_0 / R_0^2$  (×),  $W_{LJ} = 5000 T_0 / R_0^2$  (\*),  $W_{LJ} = 6000 T_0 / R_0^2$  (□) und  $W_{LJ} = 7000 T_0 / R_0^2$  (■). Die eingezeichneten Linien ergeben sich aus Gleichung (6.29) mit den entsprechenden Potentialtiefen.

### Freie Vesikeln unter Einfluß osmotischer Drücke

Bei Anwesenheit osmotisch aktiver Teilchen ergibt sich unabhängig von der Biegesteifigkeit  $\kappa$  mit  $1 \leq \kappa/T \leq 20$  ein annähernd lineares Verhalten in bezug auf die Differenz der osmotischen Drücke innerhalb und außerhalb der Vesikel. Dieses Verhalten ist unabhängig von der Anzahl  $N_e$  der Vertices in der Triangulierung im Bereich  $300 \leq N_e \leq 1000$ . Abbildung 6.29 zeigt die Ergebnisse von Monte-Carlo-Simulationen triangulierter Vesikeln mit 500 Vertices für  $N = 10000$  osmotisch aktive Teilchen im Vesikelinneren und unterschiedliche Biegesteifigkeiten als Funktion der Konzentration  $c_{ex}$  außerhalb der Vesikel. Dabei zeigt sich, daß die Oberflächenspannung mit steigender Biegesteifigkeit abnimmt. Dies ist auf die Abnahme der Fluktuationen der Vesikelmembran zurückzuführen, die einerseits durch eine angelegte Oberflächenspannung gedämpft werden können, aber andererseits auch eine Oberflächenspannung erzeugen. Letzteres ist in dem hier betrachteten System der Fall.

Da die Vesikelmembran geschlossen ist und damit Fluktuationen der Membran konstanter Fläche das eingeschlossene Volumen verringern, sind die Amplituden der Fluktuationen auch im Fall sehr kleiner Biegesteifigkeiten beschränkt, so daß bei fest vorgegebenen osmotischen Bedingungen ein Grenzwert der Oberflächenspannung für sehr kleine Biegesteifigkeiten existieren sollte. Dies konnte in den Simulationen beobachtet werden.

Im Falle sehr großer Biegesteifigkeiten sind die Amplituden der Fluktuationen der Vesikelmembran sehr klein, so daß sich eine annähernd sphärische Form bei den untersuchten osmotischen Drücken einstellt. Damit wirken sich Änderungen der osmotischen Drücke ausschließlich auf die Größe der intrinsischen Vesikeloberfläche aus, und es ist ein Grenzwert der Oberflächenspannung bei konstanten osmotischen Bedingungen mit wachsender Biegesteifigkeit zu erwarten. Dies kann durch die Simulationsergebnisse bestätigt werden. Der Grenzfall der Laplace-Gleichung

$$\sigma = \frac{R_0}{2} T \left( \frac{3N}{4\pi R_0^3} - c_{ex} \right), \quad (6.30)$$

bei deren Herleitung keine Fluktuationen der Grenzfläche berücksichtigt werden, fällt da-



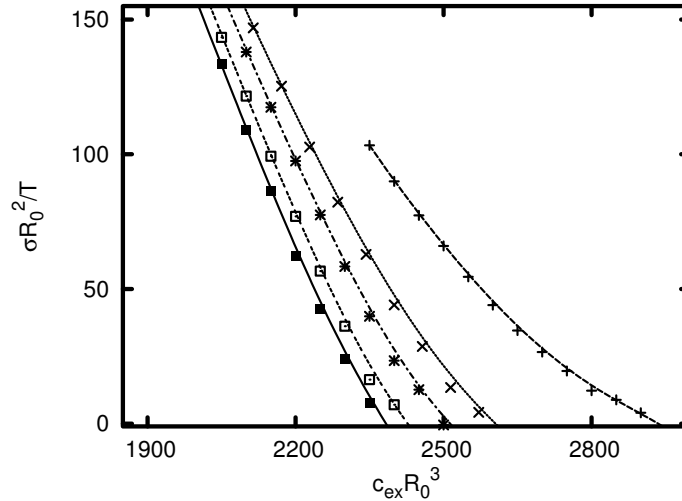


Abbildung 6.29: Die Oberflächenspannung  $\sigma$  in reduzierten Einheiten als Funktion der äußeren Konzentration  $c_{ex}$  osmotisch aktiver Teilchen für die Biegesteifigkeiten  $\kappa = 1T$  (+),  $\kappa = 3T$  ( $\times$ ),  $\kappa = 5T$  (\*),  $\kappa = 10T$  ( $\square$ ) und  $\kappa = 20T$  ( $\blacksquare$ ).

her nicht unerwartet im Falle einer verschwindenden Differenz osmotischer Drücke in und außerhalb der Vesikel mit den Ergebnissen für eine Biegesteifigkeit  $\kappa = 20T$  zusammen.

## 6.6 Bemerkungen zum Fall sehr kleiner Biegesteifigkeiten

In den vorangegangenen Abschnitten konnte gezeigt werden, daß der Grenzfall sehr kleiner Biegesteifigkeiten bei Berücksichtigung osmotischer Drücke, die ein nicht zu kleines reduziertes Vesikelvolumen (weit entfernt vom *Crumpling* Übergang) stabilisieren, Fluktuationen der Vesikelmembran begünstigt werden, die sphärische Vesikelformen bewirken.

In diesem Zusammenhang steht eine Reihe von Fragestellungen, die nicht im Rahmen dieser Arbeit beantwortet werden konnten.

Die angesprochenen Beobachtungen legen für freie Vesikeln mit einem reduzierten Volumen, daß durch die osmotischen Bedingungen vorgegeben ist, eine maximale mittlere Asphärizität bei einem Wert  $\kappa/T > 0$  für die Biegesteifigkeit nahe. In Anbetracht unterschiedlicher Ergebnisse in zwei bzw. drei Dimensionen sollte die Untersuchung für beide Fälle durchgeführt werden. Insbesondere wäre eine exakte Behandlung konstanter Fläche und konstanten Volumens wünschenswert.

Durch eine sehr kleine Biegesteifigkeit  $\kappa = 0.1T$  werden zwar in den Monte-Carlo-Simulationen sehr starke Knicke in der Membran verboten, jedoch weniger starke Knicke erlaubt, deren lokale Beiträge zur Biegeenergie (Gleichung (2.1)) durch den Canham-Helfrich-Ausdruck nicht richtig erfaßt werden. Sofern hier bessere Modelle verfügbar sind, sollten die vorhandenen Ergebnisse mit den aus dem neuen Modell zu erhaltenen verglichen werden.

# Kapitel 7

## Vesikeln in eingeschränkten Geometrien

Herkömmliche Monte-Carlo-Simulationen fluider Vesikeln in komplexen Geometrien erweisen sich oft als äußerst aufwendig, da der Übergang zwischen unterschiedlichen durch die vorgegebene äußere Geometrie erlaubten Formen eine sehr große Anzahl von Monte-Carlo-Schritten benötigen kann. Zur Lösung dieses Problems bieten sich die Einführung geeigneter Monte-Carlo-Schritte oder die Einschränkung des Ensembles an.

Letzteres führt auf eingeschränkte Zustandssummen und freie Energien sowie auf bedingte Erwartungswerte, auf deren Grundlage sich die Erwartungswerte von Observablen im ursprünglichen Ensemble berechnen lassen.

Die obengenannten Lösungsvorschläge konnten auf die im folgenden beschriebenen Fragestellungen erfolgreich angewendet werden. Dies betrifft die Nachbildung von Evans' Mikropipettenexperiment zur Bestimmung der Biegesteifigkeit [106] sowie den Durchgang fluider Vesikeln durch Poren.

### 7.1 In Mikropipetten eingesaugte Vesikeln

#### 7.1.1 Einleitung

Seit 1980 wurde eine Vielzahl von Verfahren entwickelt, mit denen man aus der stationären Form einer in eine Pipette eingesaugten fluider Vesikel deren Biegesteifigkeit und Flächenkompressionsmodul ermitteln kann [107, 108, 91, 176]. Eine Bestimmung dieser elastischen Eigenschaften kann aber auch durch explizite Berücksichtigung thermischer Fluktuationen des freien Teils der eingesaugten Vesikel erfolgen [106, 109] (siehe Abschnitt 7.1.2).

Neben der Messung von Biegesteifigkeit und Flächenkompressionsmodul ermöglichen derartige Mikropipettenverfahren eine Bestimmung der Permeabilitätskonstante des Membranmaterials [177] sowie der Reißspannung fluider Membranen [178, 179, 180]. Die in die Pipette eingesaugte Vesikel kann auch zur Übertragung von Kräften genutzt werden, was bei der dynamischen Kraftspektroskopie von Adhäsionsproteinen Anwendung findet [181, 182, 183, 184].

Bei der Bestimmung der Biegesteifigkeit  $\kappa$  fluider Membranen zeigt sich, daß diese für verschiedene Verfahren stark unterschiedliche Werte liefert. Für 1-Stearyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (SOPC) wurde anhand von Experimenten, bei denen ein Faden aus der Fluiden Vesikel herausgezogen wird, ein Wert von  $\kappa \approx 2 \cdot 10^{-19}$  J ermittelt [110]. Eine Analyse der Formfluktuationen lieferte  $\kappa \approx 1.3 \cdot 10^{-19}$  J [185], und Evans erhielt mit Mikropipettenverfahren unter Berücksichtigung der Fluktuationen einen Wert von  $\kappa \approx 9 \cdot 10^{-20}$  J [106]. In den folgenden beiden Abschnitten wird mit Monte-Carlo-Simu-

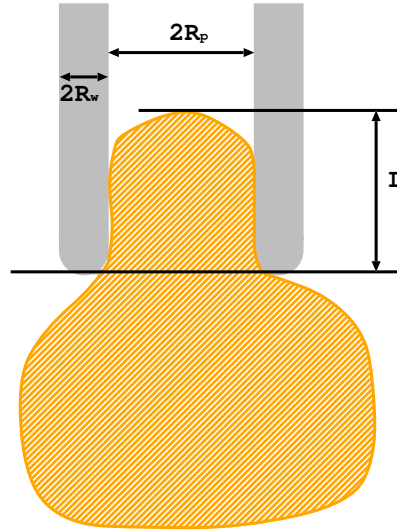


Abbildung 7.1: In eine Pipette mit Radius  $R_p$  eingesaugte fluide Vesikel.

lationen untersucht, inwieweit die dort nach Evans' Verfahren gemessene Biegesteifigkeit von der in den Simulationen verwendeten mikroskopischen Biegesteifigkeit  $\kappa_{sim}$  abweicht.

Des weiteren wurde unter Verwendung derselben experimentellen Anordnung mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen untersucht, welchen Einfluß das Anlegen einer Oberflächenspannung auf das Adhäsionsverhalten der Vesikelmembran an ein attraktives Substrat hat.

### 7.1.2 Evans' Mikropipettenexperiment zur Bestimmung der Biegesteifigkeit fluider Vesikeln

Bei dem von Evans vorgeschlagenen Verfahren wird eine fluide Vesikel mit einem Radius  $R_0$  im freien Zustand in eine Pipette mit Radius  $R_p$  mittels einer Druckdifferenz  $\Delta P$  eingesaugt. Der sich ausbildende Meniskus habe die Länge  $L$ . Zur Illustration ist diese Anordnung in Abbildung 7.1 graphisch dargestellt. Das Vesikelvolumen ist auf Grund einer hinreichend großen Konzentration osmotisch aktiver Teilchen in und außerhalb der Vesikel als konstant angenommen. Für die mittlere Oberflächenspannung der Vesikelmembran ergibt sich dann [106]

$$\sigma = \frac{\Delta P R_p}{2(1 - R_p/R_0)}. \quad (7.1)$$

Ist  $\bar{L}$  die Meniskulänge für den spannungsfreien Zustand, so ist die relative Änderung der projizierten Vesikeloberfläche durch

$$\alpha \simeq \frac{R_p}{2R_0^2} \left(1 - \frac{R_p}{R_0}\right) \Delta L \quad (7.2)$$

mit  $\Delta L = L - \bar{L}$  gegeben. Setzt man die Oberflächenspannung  $\sigma$  mit der relativen Flächenänderung  $\alpha$  in Beziehung, wie dies von Helfrich und Servuss für eine ebene Membran gemacht wurde [186], so erhält man folgendes Ergebnis

$$\alpha \simeq \frac{T}{8\pi\kappa} \ln \left(1 + \frac{\sigma A}{\pi^2\kappa}\right) + \frac{\sigma}{k}, \quad (7.3)$$

wobei  $A$  die projizierte Fläche des außerhalb der Pipette befindlichen Teils der Vesikelmembran ist. Für Spannungen  $\sigma$  mit

$$\frac{\pi^2\kappa}{A} \ll \sigma \ll \frac{T k}{8\pi\kappa} \quad (7.4)$$

läßt sich dieses Resultat weiter vereinfachen zu

$$\alpha \simeq \frac{T}{8\pi\kappa} \ln \frac{\sigma}{c}, \quad (7.5)$$

wobei die Einheit von  $\sigma$  in der Konstante  $c$  berücksichtigt wird. Es ergibt sich folglich eine lineare Abhängigkeit, aus deren Anstieg die Biegesteifigkeit abgelesen werden kann. Eine detailliertere Untersuchung von Henriksen und Ipsen [187] zeigt, daß die so gemessene Biegesteifigkeit bei Berücksichtigung der Flächenelastizität kleiner als die wahre Biegesteifigkeit ist.

### Umsetzung als Simulation

Für die Umsetzung des Experiments zur Bestimmung der Biegesteifigkeit anhand der Fluktuationen einer in eine Pipette eingesaugten Vesikel wurde die Vesikel durch eine geschlossene dynamisch triangulierte Fläche mit 500 Vertices modelliert, wobei implizit durch das *Tethered Beads* Modell eine Flächenelastizität gegeben ist. Der mittlere Radius der freien Vesikel betrug  $R_0 = 1$ . In Analogie zum realen Experiment wurde ein Pipettenradius von  $R_p = 0.4 R_0$  angenommen. Die Pipettenwand wurde als harte Wand ohne attraktive und langreichweitige repulsive Wechselwirkung angenommen. Um ein Eindringen einer freien fluiden Vesikel in die Pipette zu begünstigen, wurde der Pipettenmund abgerundet mit einem Radius  $R_w$ , der so groß wie die mittlere Kantenlänge im *Tethered Beads* Modell ist. Aus Effizienzgründen wurde angenommen, daß sich die Wechselwirkung mit der Pipette auf die Vertices der Triangulierung beschränkt. Dies hat zur Folge, daß einzelne Dreiecke an der Pipettenöffnung diese lokal schneiden können. Ein Durchdringen der Vesikeloberfläche durch die Pipettenwand auf großen Längenskalen ist jedoch auf Grund der gewählten Wanddicke nicht möglich.

Das Vesikelvolumen wurde wie im Experiment durch die Annahme osmotisch aktiver Teilchen konstant gehalten. Die Anzahl derartiger Teilchen im Vesikelinneren betrug  $N = 10000$ , und die Konzentration im die Vesikel umgebenden Medium  $c_{ex} = 2650 R_0^{-3}$ . Der entsprechende Beitrag zur Konfigurationsenergie ist durch  $E_{osm}$  aus Gleichung (2.6) gegeben. Neben diesem Beitrag trägt die Druckdifferenz  $\Delta P$  bei konstantem Vesikelvolumen mit der Energie

$$E_{\Delta P} = -\Delta P V_p \quad (7.6)$$

zur Konfigurationsenergie bei, wobei  $V_p$  der Anteil des Vesikelvolumens ist, der sich innerhalb der Pipette befindet. Dieses Teilvolumen läßt sich mit Hilfe des Gaußschen Satzes exakt berechnen. Befinden sich die Pipette senkrecht zur Fläche  $z = 0$  im Bereich positiver  $z$  und die Pipettenöffnung bei  $z = 0$ , so ist lediglich über  $zn_z$  auf der in der Pipette befindlichen Vesikeloberfläche zu integrieren. Dabei sind die Dreiecke der Triangulierung, die die Ebene  $z = 0$  schneiden, in Teilflächen zu zerlegen.

Das Meniskusende wird in der Triangulierung nur durch wenige Dreiecke repräsentiert. Deren Normaleneinheitsvektoren schließen zudem große Winkel ein, was einen großen lokalen Beitrag zur Biegeenergie bedeutet, so daß in diesem Bereich selten lokale Monte-Carlo-Schritte akzeptiert werden. Um seltene Änderungen der absoluten Meniskulänge zu kompensieren, wurde diese durch eine effektive Meniskulänge (wie  $z_{min}$  in Gleichung (6.3)) ersetzt.

Wie im Experiment wurde in den Simulationen die Druckdifferenz  $\Delta P$  variiert und die mittlere Meniskulänge  $L$  gemessen. Die Ermittlung des spannungsfreien Referenzzustandes erfolgte mit den in Abschnitt 6.5 beschriebenen Methoden unter Anwendung der in Gleichung (6.27) angegebenen Berechnungsvorschrift für die Oberflächenspannung.

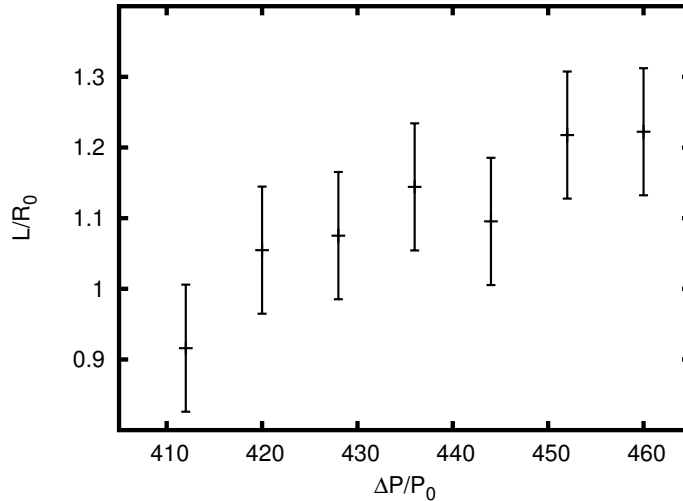


Abbildung 7.2: Meniskuslänge  $L$  für eine fluide triangulierte Vesikel mikroskopischer Biegesteifigkeit  $\kappa_{sim} = 3T$  im Canham-Helfrich-Ausdruck für die Biegeenergie als Funktion der Ansaugdruckdifferenz  $\Delta P$ . Die Fehlerbalken beziehen sich auf einen maximalen Meßfehler von der Größe der halben mittleren Kantenlänge im *Tethered Beads* Modell.

### Monte-Carlo-Schritte

Wie eingangs des Kapitels erwähnt, sind für die effiziente Monte-Carlo-Simulation fluider Vesikeln in eingeschränkten Geometrien, an die Geometrie angepaßte Monte-Carlo-Schritte notwendig. Neben den üblichen lokalen Vertexbewegungen und *Bond Flips* mit ca. 20% bzw. 30% aller Schritte erfolgen Translationen senkrecht zu  $z = 0$ , das heißt in die Pipette hinein oder heraus, mit 0,5% der Schritte. Lokale Vertexbewegungen, parallel zum Pipettenmund in der Nähe desselben, wurden mit 20% der Schritte und *Bond Flips* in diesem Bereich mit 30% der Schritte<sup>1</sup> durchgeführt.

Es wurden zur Äquilibration und zur Berechnung der Mittelwerte jeweils  $5 \cdot 10^8$  Monte-Carlo-Schritte für jede Parameterwahl durchgeführt.

### Messung der Biegesteifigkeit

Die Messung der mittleren Meniskuslänge  $L$  bzw. der relativen Flächenänderung  $\alpha$  als Funktion der Druckdifferenz  $\Delta P$  für die mikroskopischen Biegesteifigkeiten  $\kappa_{sim} = 3T$  und  $\kappa_{sim} = 5T$  ergab die in den Abbildungen 7.2, 7.3 bzw. 7.4 dargestellten Abhängigkeiten, wobei für den minimalen Ansaugdruck zur Erzeugung einer Oberflächenspannung für beide gewählten Biegesteifigkeiten  $\Delta P_{min} = 412 P_0$  angenommen wurde<sup>2</sup>. Typische Konfigurationen sind für  $\kappa = 5T$  und verschiedene Druckdifferenzen  $\Delta P$  in Abbildung 7.5 gezeigt.

Unter Verwendung von Gleichung (7.5) läßt sich aus dem Anstieg des Logarithmus der Oberflächenspannung  $\sigma$  als Funktion der relativen Flächenänderung  $\alpha$  im Bereich nicht zu kleiner Oberflächenspannungen die Biegesteifigkeit ablesen. Entsprechende zu den mikroskopischen Biegesteifigkeiten  $\kappa$  gehörende Geraden sind in den jeweiligen Abbildungen eingetragen. Dabei ließ sich für  $\kappa_{sim} = 3T$  die Biegesteifigkeit durch

$$3T \lesssim \kappa \lesssim 5T \quad (7.7)$$

<sup>1</sup>Siehe Abschnitt 3.2.4 für eine detaillierte Beschreibung der Schritte.

<sup>2</sup> $P_0 \equiv T/R_0^3$

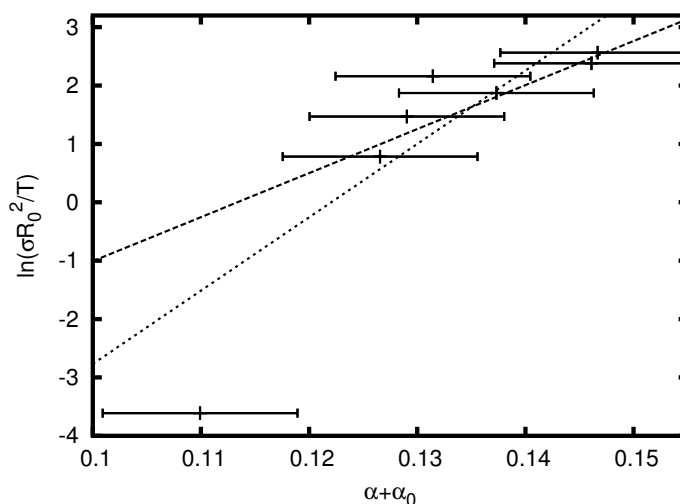


Abbildung 7.3: Die sich aus den in Abbildung 7.2 dargestellten Rohdaten ergebende Spannung  $\sigma$  als Funktion der relativen Änderung  $\alpha$  der projizierten Fläche für eine fluide triangulierte Vesikel mit einer mikroskopischer Biegesteifigkeit  $\kappa_{sim} = 3T$  im Canham-Helfrich-Ausdruck für die Biegeenergie. Die gestrichelte Linie würde einem Meßwert  $\kappa = 3T$  entsprechen, die gepunktete einem Meßwert  $\kappa = 5T$ . Mögliche Meßfehler für die Meniskuslänge  $L$  von der Größe der halben mittleren Kantenlänge im *Tethered Beads* Modell sind durch Fehlerbalken in bezug auf  $\alpha$  berücksichtigt. Da jedoch nur der Anstieg von  $\ln \sigma(\alpha)$  bestimmt werden soll, ist der exakte Nulldurchgang von  $\alpha(\sigma)$  irrelevant, der den Offset  $\alpha_0$  festlegt.

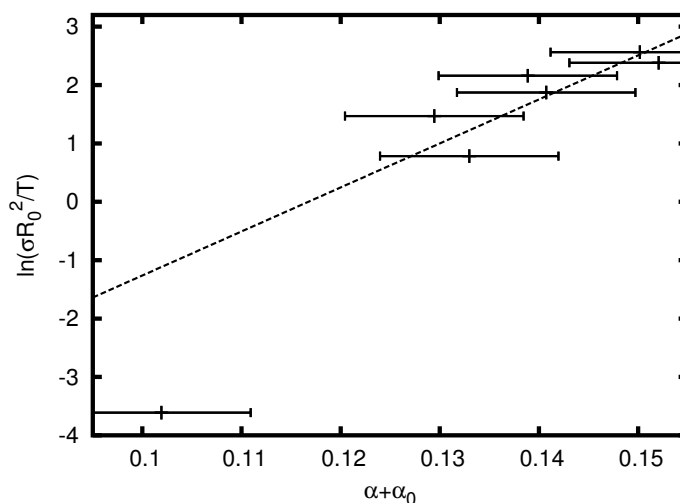


Abbildung 7.4: Die Spannung  $\sigma$  als Funktion der relativen Änderung  $\alpha$  der projizierten Fläche für eine fluide triangulierte Vesikel mit einer mikroskopischer Biegesteifigkeit  $\kappa_{sim} = 5T$  im Canham-Helfrich-Ausdruck für die Biegeenergie. Die gestrichelte Linie würde einem Meßwert  $\kappa = 5T$  entsprechen.

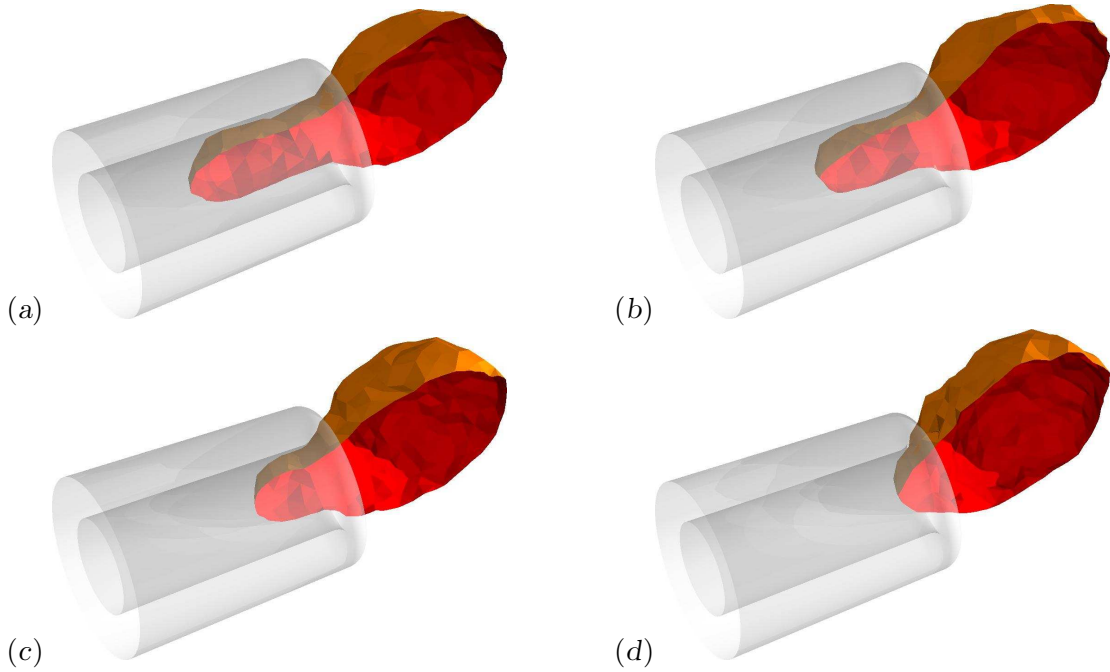


Abbildung 7.5: In eine Mikropipette mit Radius  $R_p = 0.4$  eingesaugte fluide Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 5T$  bei unterschiedlichen Druckdifferenzen  $\Delta P$ : (a)  $460 \Delta P_0$ , (b)  $428 \Delta P_0$ , (c)  $420 \Delta P_0$ , (d)  $412 \Delta P_0$ . Die Vesikel ist jeweils in der Mitte aufgeschnitten, und die Außen- bzw. Innenseite sind in orange bzw. rot dargestellt.

eingrenzen, und für  $\kappa_{sim} = 5T$  ergibt sich

$$\kappa \simeq 5T. \quad (7.8)$$

Diese Ergebnisse legen den Schluß nahe, daß für die untersuchten Biegesteifigkeiten die mit dem Mikropipettenverfahren geschätzten Biegesteifigkeiten dieselbe Größenordnung wie die tatsächlichen Wert haben.

Biegesteifigkeiten mit  $\kappa \geq 10T$  konnten auf Grund eines dann nicht mehr ausreichenden Auflösungsvermögens für die mittlere Meniskuslänge nicht im Rahmen der oben beschriebenen Simulationen untersucht werden.

### 7.1.3 Anwendung: Membranen mit gegebener Oberflächenspannung

Zum Festhalten fluider Vesikeln sind Mikropipetten das ideale Hilfsmittel, denn neben dem reversiblen Ansaugen wird durch den Ansaugdruck die Oberflächenspannung der Vesikelmembran vorgegeben. Bringt man eine so eingesaugte Vesikel an ein attraktives Substrat und ist der adhärierte Anteil der Membran hinreichend groß, so läßt sich der zentrale Bereich dieser Kontaktzone als Membran mit gegebener Oberflächenspannung auffassen. In dieser Anordnung sollte sich nun spannungsinduzierte Adhäsion untersuchen lassen, wobei eine Erhöhung der Oberflächenspannung  $\sigma$  zu einer Abnahme der Rauigkeit

$$\xi = \langle z^2 \rangle - \langle z \rangle^2 \quad (7.9)$$

führen und eine Konzentration der Kontaktfläche auf das Minimum des attraktiven Potentials bewirken sollte [188]. Dies ist schematisch in Abbildung 7.6(a) dargestellt, wobei das Minimum des attraktiven Potentials im Falle eines Lennard-Jones-Potentials nicht mit dem Rand des Substrats zusammenfällt.

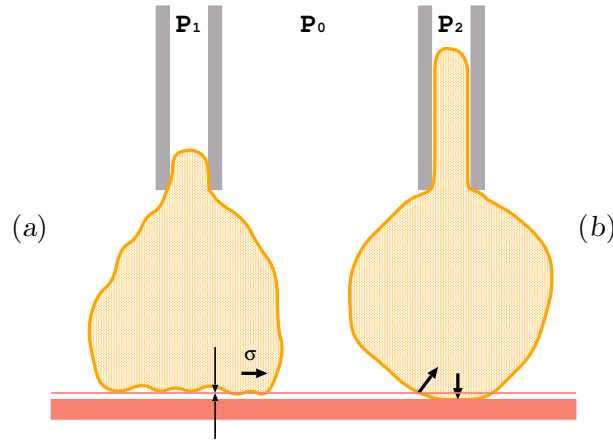


Abbildung 7.6: Schematische Darstellungen einer fluiden Vesikel, die an einem attraktiven planaren Substrat adhärirt ist und in eine Mikropipette eingesaugt wird ( $P_0 > P_1, P_2$ ). Es sind folgende Situationen denkbar: (a) Durch das Ansaugen der Vesikel wird eine Oberflächenspannung aufgebaut, die die Kontaktfläche strafft. (b) Auf Grund der geschlossenen Form wird die Vesikel vom Substrat abgelöst.

Diesem Effekt wirkt jedoch ein geometriebedingtes Ablösen der Vesikelmembran mit steigender Oberflächenspannung am Rand der Kontaktzone unter Bildung großer positiver Kontaktradien entgegen, wobei die Vesikel, soweit dies möglich ist, bis auf den Meniskus in der Pipette allmählich Kugelform annimmt (siehe Abb. 7.6(b)). Im folgenden soll mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen untersucht werden, welcher dieser beiden Mechanismen der dominierende ist.

### Simulationsdetails

Das attraktive Potential des Substrates soll wieder durch ein 9-3-Lennard-Jones-Potential wie in Gleichung (3.5) modelliert werden. Dabei wurde in Anlehnung an experimentelle Ergebnisse dessen charakteristische Längenskala  $\sigma_{LJ}$  im Bereich weniger Prozente des Vesikelradius variiert. Als Potentialtiefe wurde  $W_{LJ} = 1000 T/R_0^2$  gewählt, was von derselben Größenordnung wie die für Adhäsion minimale Potentialtiefe  $W_{LJ,min} \simeq 600 T/R_0^2$  ist. Um die Ausbildung von Fluktuationen in der Kontaktzone zu begünstigen, wurde eine Triangulierung mit einer für die betrachtete Geometrie großen Anzahl von 500 Vertices für die Vesikel verwendet und die mikroskopische Biegesteifigkeit auf  $\kappa = 3T$  gesetzt. Das Vesikelvolumen wurde durch den osmotischen Beitrag  $E_{osm}$  zur Gesamtenergie mit  $N = 10000$  osmotisch aktiven Teilchen im Vesikelinneren und einer Konzentration von  $c_{ex} = 2700 R_0^{-3}$  stabilisiert. Die Mikropipette hatte einen Radius von  $R_p = 0.4 R_0$  und einen Abstand von  $1.3 R_0$  über dem Substrat. Sie wurde im Gegensatz zu den rein analytischen Studien des Ablöses einer Vesikel durch Brochard-Wyart und de Gennes [189] nicht bewegt. Nach einer adaptiven Äquilibration mit ca.  $5 \cdot 10^8$  Monte-Carlo-Schritten erfolgte die Mittelung der Observablen mit ebenso vielen Schritten in den Gleichgewichtssimulationen für die verschiedenen Ansaugdrücke  $\Delta P$ .

### Simulationsergebnisse für ein schmales Potentialminimum

Das verwendete Lennard-Jones-Potential steigt bzw. fällt in der Umgebung des Minimums relativ stark. In diesem Sinne handelt es sich um ein Potential mit einem schmalen Potentialminimum. Diese Tatsache wirkt sich nachteilig auf die Ausbildung von Fluktuationen in der Kontaktfläche einer adhärirten Membran aus. Als Maße für diese Fluktuationen



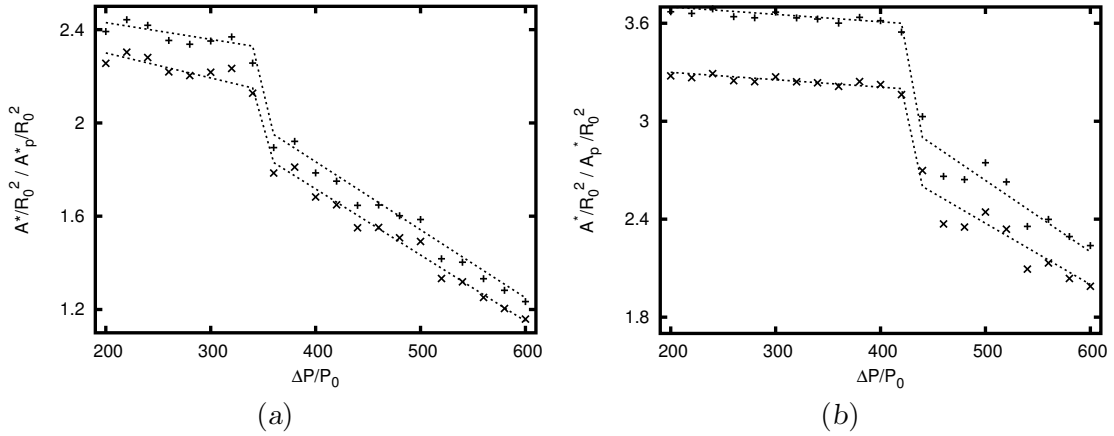


Abbildung 7.7: Die Kontaktfläche  $A^*$  und deren Projektion  $A_p^*$  für eine fluide Vesikel mit Biegesteifigkeit  $\kappa = 3T$ , die in eine Mikropipette mit Radius  $R_p = 0.4 R_0$  und Pipettenmund bei  $z = 1.3 R_0$  unter Einfluß der Ansaugdruckdifferenz  $\Delta P$  eingesaugt ist, an einer attraktiven planaren Wand (bei  $z = 0$ ) mit  $W_{LJ} = 1000T/R_0^2$  und Reichweiten  $\sigma_{LJ} = 0.03 R_0$  (a) und  $\sigma_{LJ} = 0.1 R_0$  (b).

bieten sich zum Beispiel die Rauigkeit  $\xi$  der Membran in der Kontaktzone oder der Quotient aus projizierter Kontaktfläche (bezüglich des planaren Substrats) und deren absoluter Größe an.

In den Abbildungen 7.7 und 7.8 sind die Größe der Kontaktfläche und ihrer Projektion für die durchgeführten Experimente mit  $\sigma = 0.03 R_0$  und  $\sigma = 0.1 R_0$  dargestellt. Während sich bis zum Erreichen einer nennenswerten Oberflächenspannung bei einer Druckdifferenz  $\Delta P \simeq 350 P_0$  bzw.  $430 P_0$  die Größe der Kontaktfläche und die Größe ihrer Projektion kaum ändern, nehmen beide Flächen für größere Werte  $\Delta P$  stark ab. Inwieweit sich diese unstetig ändern, kann hier nicht abschließend geklärt werden. Da dies auch die projizierte Fläche betrifft, ist die in Abbildung 7.6(b) skizzierte Ablösung der Vesikel als der dominierende Prozeß anzusehen. Diese Schlußfolgerung wird auch dadurch gestützt, daß die Rauigkeit der Vesikelmembran in der Kontaktzone minimal für kleine Ansaugdruckdifferenzen ist. In Abbildung 7.9 sind charakteristische Konfigurationen für diesen Prozeß dargestellt.

### Diskussion und Ausblick

Die Adhäsionseigenschaften fluider Vesikeln an Substraten mit schnell abfallender attraktiver Wechselwirkung hängen sowohl von der Potentialtiefe mit direktem Einfluß auf die Konfigurationsenergie und die globale Form der Vesikel als auch von der Potentialbreite im Bereich des Minimums ab, wobei letztere erheblichen Einfluß auf die Möglichkeit hat, intrinsische Membranfläche in der Kontaktzone zu speichern.

Bei dem verwendeten Lennard-Jones-Potential sind dessen Breite und Reichweite bei konstanter Potentialtiefe  $W_{LJ}$  allein durch den Parameter  $\sigma_{LJ}$  bestimmt und damit voneinander abhängig, was für vernünftige Reichweiten im Bereich weniger Prozent des Vesikelradius zwangsläufig zu einem sehr schmalen Potential mit wenig Raum für Fluktuationen in der Kontaktfläche führt. In diesem Zusammenhang ist die Wiederholung der durchgeführten Ablöseexperimente mit einem weniger schmalen attraktiven Potential von Interesse. Im Falle eines abweichenden Ergebnisses wäre damit eine einfache experimentelle Methode gefunden, Rückschlüsse auf die Form des Wechselwirkungspotentials zwischen der Vesikelmembran und dem attraktiven Substrat zu ziehen.

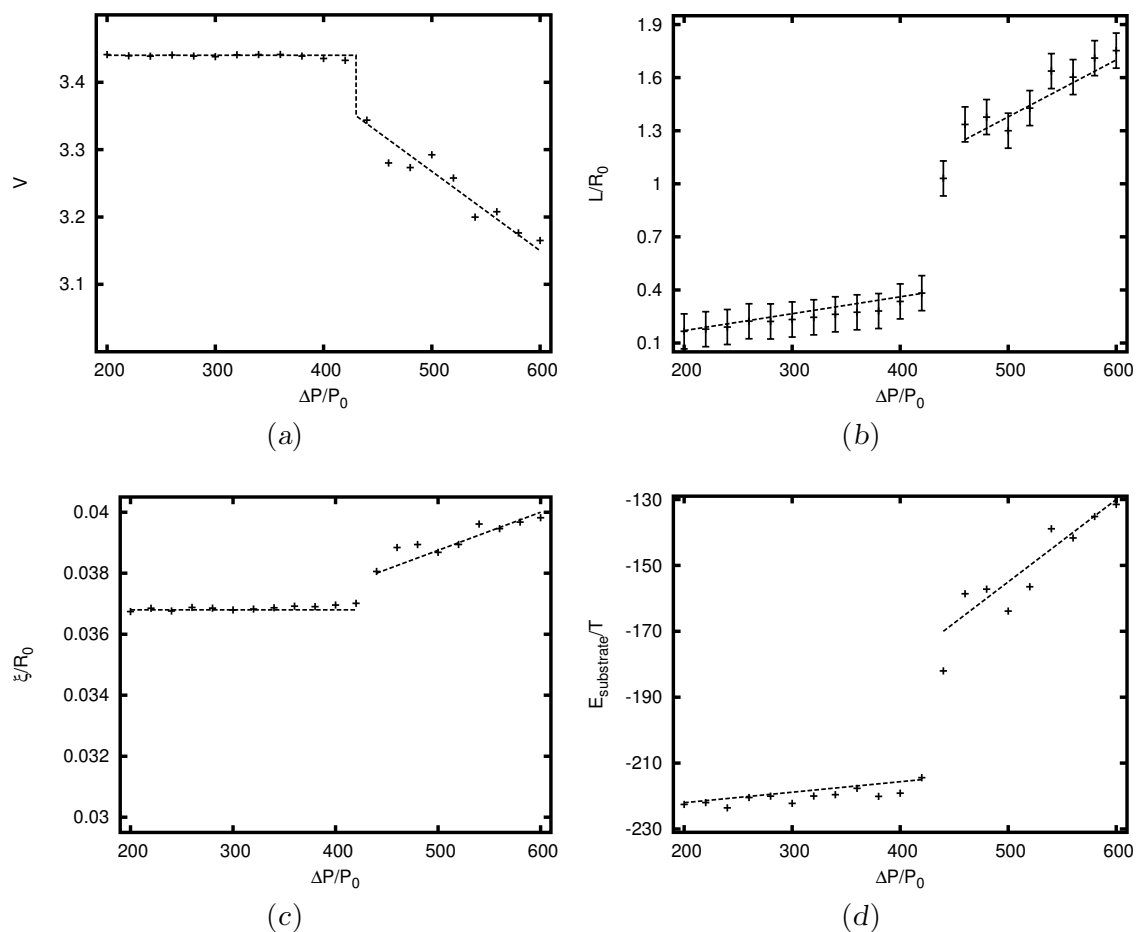


Abbildung 7.8: Entwicklung von (a) Volumen  $V$ , (b) Meniskuslänge  $L$ , (c) Rauigkeit  $\xi$  in der Kontaktzone und (d) Wandenergie  $E_{\text{substrate}}$  während des Ablösens der fluiden Vesikel von der attraktiven Wand mit  $W_{LJ} = 1000 T/R_0^2$  und  $\sigma_{LJ} = 0.1 R_0$  durch das Einsaugen in die Mikropipette mit einer Ansaugdruckdifferenz  $\Delta P$ .

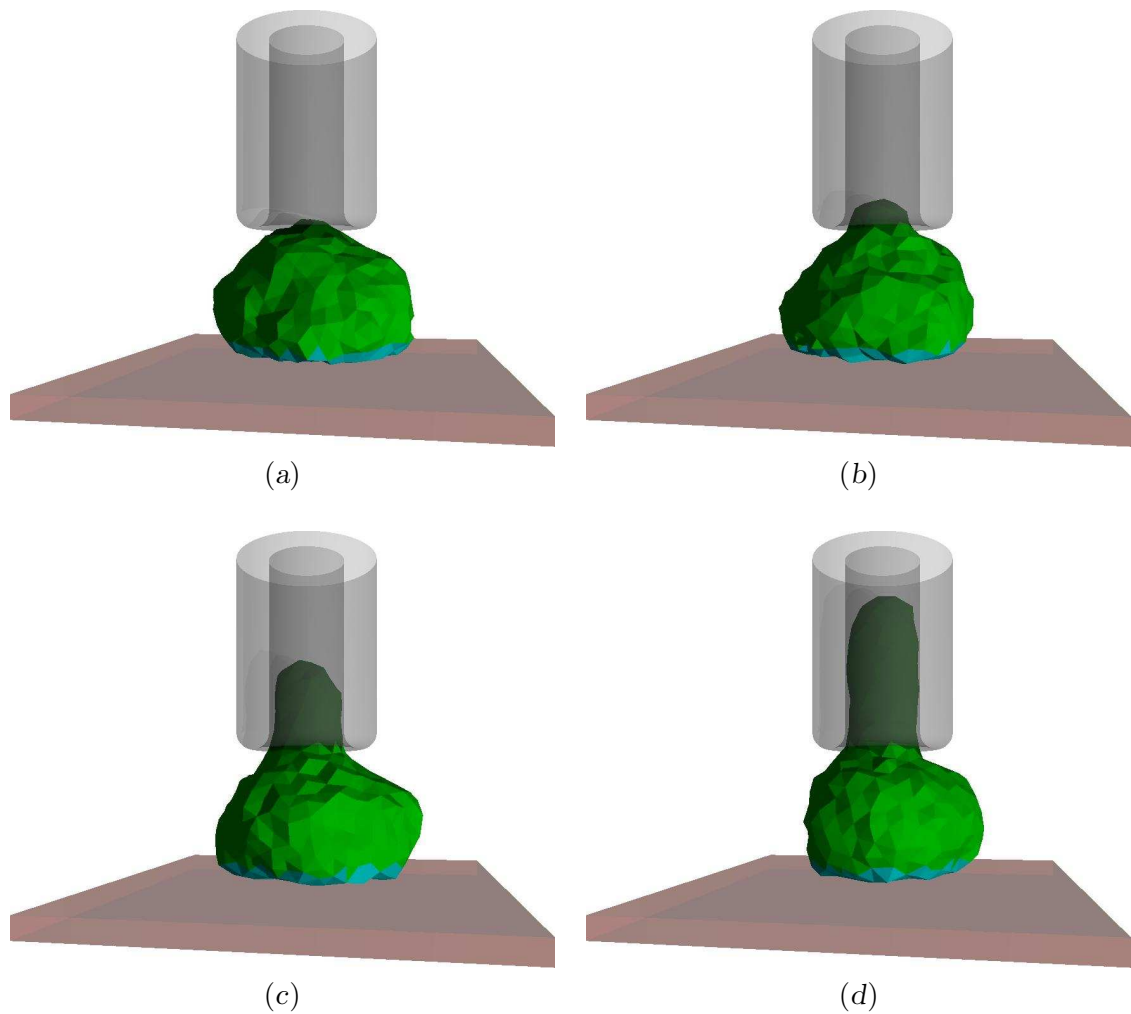


Abbildung 7.9: Typische Konfigurationen während des Ablösens der fluiden Vesikel von der attraktiven Wand mit  $W_{LJ} = 1000T/R_0^2$  und  $\sigma_{LJ} = 0.1 R_0$  durch das Einsaugen in die Mikropipette mit einer Ansaugdruckdifferenz  $\Delta P$ : (a)  $200 P_0$ , (b)  $420 P_0$ , (c)  $440 P_0$  und (d)  $600 P_0$ . Blau gefärbte Dreiecke gehören zur Kontaktzone zwischen der Vesikel und dem attraktiven Substrat.

## 7.2 Durchgang von Vesikeln durch enge Poren

### 7.2.1 Transdermale Applikation – osmotisch induzierter Durchgang durch enge Poren

In den letzten Jahrzehnten konzentrierte sich die pharmazeutische Forschung nicht ausschließlich auf die Entdeckung neuer Wirkstoffe, sondern auch auf neue Wege der Anwendung dieser Medikamente<sup>3</sup>. Wesentliche Fortschritte konnten insbesondere bei der transdermalen Anwendung [190] erreicht werden, die in vielen Fällen einer oralen Medikamenteneinnahme vorzuziehen ist [191]. Zu den wichtigsten Problemen oraler Medikamenteneinnahme zählen große Änderungen des pH-Wertes in der Umgebung der Tablette oder Kapsel, der nicht zu vermeidende Kontakt mit Nahrung und Enzymen, variierende Verdauungszeiten, pulsartige Wirkstoffaufnahme und schließlich eine mögliche Abneigung betroffener Patienten gegen Tabletten [192].

Untersuchungen der Haut zeigten, daß sie eine starke Barriere für fast alle Arten von Molekülen ist. Nur für sehr kleine lipophile Moleküle läßt sich eine bestimmte Permeabilität vorhersagen [193, 194]. Größere Moleküle können lediglich durch hydrophile Poren im *Stratum Corneum*, der äußeren Schicht der Epidermis, in tiefere Bereiche dringen [195]. Diese Poren haben Durchmesser zwischen 20 und 30  $\mu\text{m}$ , so daß viele Kolloide zu groß und zu steif sind, um durch diese Poren hindurchzutreten. Lipide Vesikeln besitzen jedoch einige Eigenschaften, die sie für einen transdermalen Transport prädestinieren [195]. Laut Cevc [196, 197, 195] können ultraflexible Vesikeln<sup>4</sup> so stark deformiert werden, daß sie durch die hydrophilen Poren dringen können. Eine von den inneren Hautschichten nach außen hin stark abfallende Hautfeuchtigkeit und damit ansteigende Konzentration osmotisch aktiver Teilchen bewirkt osmotische Drücke, die die Vesikel in die Pore hineinziehen [196]. Es ist jedoch umstritten, wie tief fluide Vesikeln intakt in die Haut eindringen können [199, 196, 200, 201, 202, 203]. Sollte die mit Wirkstoffen gefüllte Vesikel intakt durch Poren in tiefe Hautschichten vordringen und dort reißen, so wird an dieser Stelle schließlich der Wirkstoff freigesetzt.

Erste theoretische Untersuchungen des Eindringens von Vesikeln in Poren gehen auf Gompper und Kroll [204] zurück. Sie untersuchten den durch eine konstante externe Kraft induzierten Eintritt fluider Vesikeln in eine enge Pore mit verschiedenen Radien. Diese Kraft kann zum Beispiel durch Anlegen eines homogenen elektrischen Feldes an geladene Vesikeln erzeugt werden. Unter Verwendung von Nichtgleichgewichts-Monte-Carlo-Simulationen und analytischen Rechnungen konnte gezeigt werden, daß die Vesikelmobilität stark ansteigt bei Erreichen eines Schwellenwerts für die äußere Kraft. Dieser Schwellenwert hängt von der Geometrie des Systems, der Temperatur und der Biegesteifigkeit der Vesikel ab. In einer neueren Arbeit betrachteten Tordeux und Fournier [205] einen adhäsionsinduzierten Durchgang von Vesikeln konstanten Volumens durch zylindrische Poren und bestimmten die stationären Formen von an bzw. in der Pore adhären Vesikeln.

Im folgenden wird der Einfluß osmotischer Drücke auf den Durchgang fluider Modell-Vesikeln durch enge Poren untersucht. Adhäsionsprozesse werden nicht betrachtet. Nach Einführung eines Modellsystems in Abschnitt 7.2.2, das alle für diesen Prozeß wichtigen Größen beinhaltet, werden Ergebnisse von Monte-Carlo-Simulationen einkomponentiger Vesikeln präsentiert (Abschnitt 7.2.4), die die Grundlage für eine Abschätzung der für den Porendurchgang charakteristischen Zeit liefern. Abschließend wird in Abschnitt 7.2.5 der Einfluß einer zweiten Komponente untersucht, die eine spontane Krümmung besitzt.

---

<sup>3</sup>auch als *Galenik* bezeichnet

<sup>4</sup>siehe zum Beispiel [198] zu Zusammensetzung und Herstellung

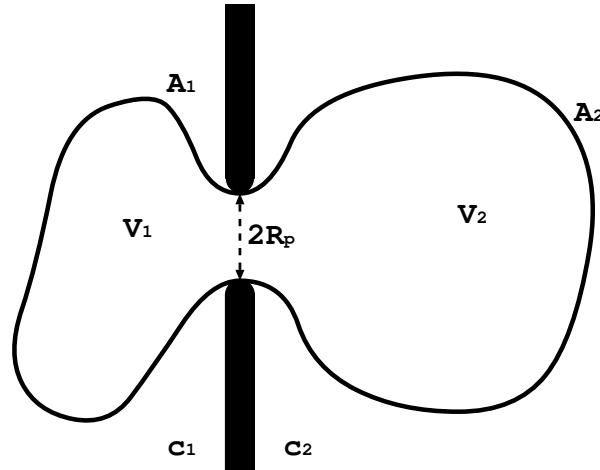


Abbildung 7.10: Vesikel in einer engen kreisförmigen Pore mit Radius  $R_p$ , der kleiner als der Radius  $R_0$  einer entsprechenden freien Vesikel ist, aber mindestens so groß, daß in der Triangulation der Vesikel keine starken Knicke auftreten. Damit kann bei dünnen die Pore umgebenden Wänden deren Dicke vernachlässigt werden. Im folgenden ist  $R_p = 0.35 R_0$  gesetzt. Die Vesikeloberfläche und das Vesikelvolumen sind durch Bereiche auf der Startseite und der Zielseite in bezug auf die Pore aufgeteilt und die entsprechenden Symbole mit Indices 1 bzw. 2 versehen. Selbiges gilt für die Konzentrationen  $c_i$  osmotisch aktiver Teilchen in der die Vesikel umgebenden Flüssigkeit.

### 7.2.2 Realisierung als Computer-Experiment

Die zu untersuchende Modellvesikel wird im folgenden durch eine triangulierte Fläche mit 300 Vertices dargestellt. Die Vesikeloberfläche sei im wesentlichen konstant  $A = A_0$ . Diese Fläche wird wie auch das Vesikelvolumen durch die Pore in zwei Bereiche aufgeteilt, wie dies in Abbildung 7.10 dargestellt ist.

Die Konfigurationsenergie setzt sich aus dem Canham-Helfrich-Ausdruck für die Biegeenergie (2.1) und dem osmotischen Beitrag (2.6) zusammen und wird in Anwesenheit einer zweiten Komponente um den entropischen Beitrag (2.21) ergänzt.

Im osmotischen Beitrag  $E_{osm}$  zur Konfigurationsenergie werden die Teilvolumina  $V_1$  und  $V_2$  mit den Konzentrationen  $c_1$  und  $c_2$  an osmotisch aktiven Teilchen in der die Vesikel umgebenden Flüssigkeit gewichtet (siehe Gleichung (2.6)). Im folgenden sei stets  $c_1 > c_2$  angenommen. Für eine Vesikel invarianter Form mit Volumen  $V$  bedeutet dies bei Versetzung aus dem Reservoir 1 in das Reservoir 2 eine Änderung der Konfigurationsenergie um

$$\Delta E_{pot} = \Delta E_{osm} = -TV(c_1 - c_2) < 0. \quad (7.10)$$

Folglich bewegt eine osmotische Kraft die Vesikel aus Reservoir 1, nachfolgend Startseite genannt, in das Reservoir 2, nachfolgend als Zielseite bezeichnet. Die Konzentrationen osmotisch aktiver Teilchen wurden in Anlehnung an experimentelle Bedingungen mit

$$cVT \simeq 10^3 \kappa \quad (7.11)$$

gewählt. Bei Biegesteifigkeiten  $\kappa = 5\text{--}20$  T ergeben sich Konzentrationen von der Größenordnung

$$c \simeq 3000 R_0^{-3}.$$

Sofern nicht anders angemerkt, wurde die Anzahl osmotisch aktiver Teilchen im Vesikelinneren auf  $N = 10000$  und deren Konzentration auf der Zielseite auf  $c_2 = 2650 R_0^{-3}$  festgelegt. Die Konzentration  $c_1$  auf der Startseite wurde in den Simulationen variiert.

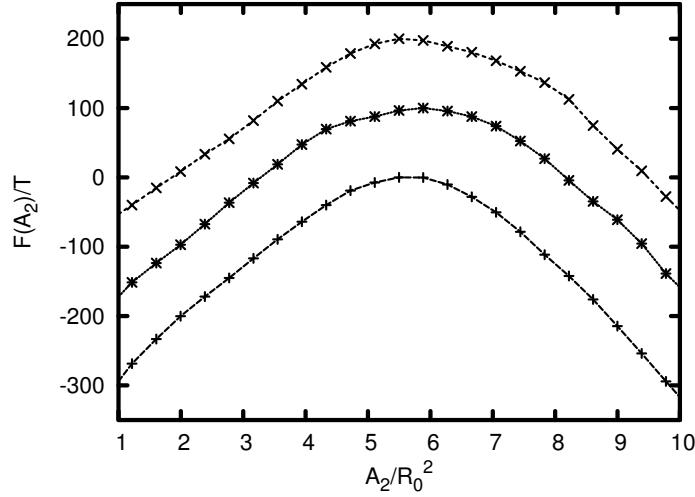


Abbildung 7.11: Die freie Energie  $F$  in Einheiten der thermischen Energie als Funktion der Fläche  $A_2$  auf der Zielseite für  $c_1 = 2700 R_0^{-3}$  und  $\kappa = 3.5T$  ( $\times$ ),  $\kappa = 9T$  ( $*$ ) sowie  $\kappa = 15T$  ( $+$ ). Ein willkürlicher Offset wurde zur Verdeutlichung addiert.

Der Durchgangsprozeß durch die Pore kann wie folgt analysiert werden. Da die Vesikeloberfläche fast konstant ist, bietet sich ihr Anteil  $A_2$  auf der Zielseite zu einer stetigen Parametrisierung des Prozesses an. Infolge dessen treten Energiebarrieren für diesen Prozeß in der eingeschränkten freien Energie  $F(A_2)$  auf, die mit Hilfe von Gleichgewichts-Monte-Carlo-Simulationen untersucht wurden. Gleichgewichtssimulationen können hier angewendet werden, da das Festlegen der Teilfläche  $A_2$  auf ein kleines Intervall den Nichtgleichgewichtsprozeß des Durchdringens der Pore mit freiem  $A_2$  in einen Gleichgewichtsprozeß überführt. Die Berechnung der Differenzen  $\Delta F(A_2)$  der eingeschränkten freien Energie erfolgte mit dem in Abschnitt 4.5 beschriebenen Algorithmus. Die Wand, in der sich die Pore befindet, wird vereinfacht als unendlich dünn angenommen.

Im Falle der einkomponentigen Vesikelmembran wurden folgende fünf verschiedene Monte-Carlo-Schritte angewendet. Unabhängige Bewegungen einzelner Vertices nehmen einen Anteil von 12% ein, *Bond Flips* 18%, Spiegelungen von Vertices an der lokalen Schmiegeebene 10%, unabhängige Vertexbewegungen in der Nähe und parallel zu der Wand, in der sich die Pore befindet, 25% und *Bond Flips* in diesem Bereich 35%.

In Anwesenheit einer zweiten Komponente werden die Anteile für allgemeine Vertexbewegungen und *Bond Flips* auf 7.5% bzw. 13.5% reduziert. Im Austausch hierzu erfolgen Umverteilungen der zweiten Komponente zwischen beliebigen Dreiecken mit 9% der Monte-Carlo-Schritte.

### 7.2.3 Einkomponentige Vesikeln

Für relativ geringe Osmolaritäten  $c_1 = 2700 R_0^{-3}$  auf der Startseite der Pore läßt sich eine Barriere in der freien Energie  $F(A_2)$  beobachten, die, wie in Abbildung 7.11 dargestellt, im wesentlichen unabhängig ist von der Biegesteifigkeit ist. Bei kleinen Werten  $A_2$  ist die Bestimmung der verallgemeinerten Kraft  $f(A_2)$  auf Grund der geringen Anzahl von Vertices in  $A_2$  und der dort vorhandenen starken Knicke in der Vesikelmembran sehr ineffizient. Aus diesem Grunde beginnen die Meßkurven für die freie Energie  $F(A_2)$  erst bei  $A_2 \approx 1 R_0^2$  und enden entsprechend bei  $A_2 \approx 10 R_0^2$ . Abbildung 7.12 zeigt typische Konfigurationen für den Durchgangsprozeß. Diese Energiebarriere verschwindet für große Osmolaritäten  $c_1 = 3200 R_0^{-3}$  auf der Startseite (siehe Abbildungen 7.13 und 7.14).

Es zeigt, daß die Verläufe eingeschränkten freien Energien  $F(A_2)$  für beide Grenzfälle

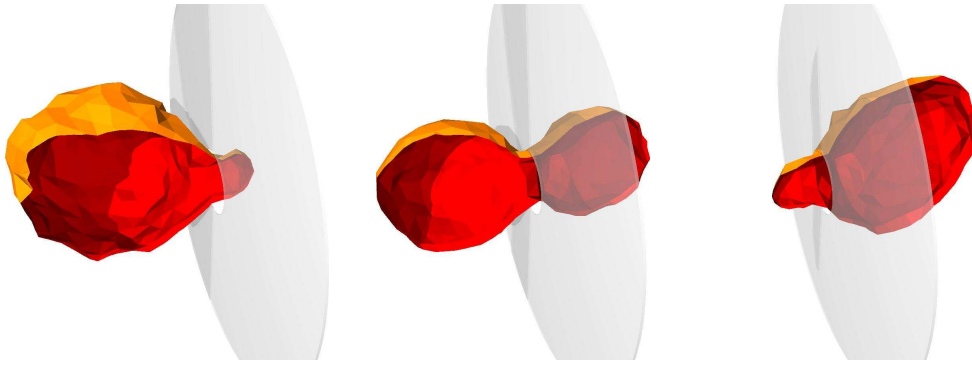


Abbildung 7.12: Typische Konfigurationen für  $c_1 = 2700 R_0^{-3}$ ,  $\kappa = 3.5 T$  und – von links nach rechts –  $A_2 = 0.8 R_0^2$ ,  $A_2 = 5.9 R_0^2$  und  $A_2 = 11.3 R_0^2$ . Die Vesikeln sind in der Mitte aufgeschnitten, und die Außen- und Innenseite der Vesikelmembran sind in orange bzw. rot dargestellt.

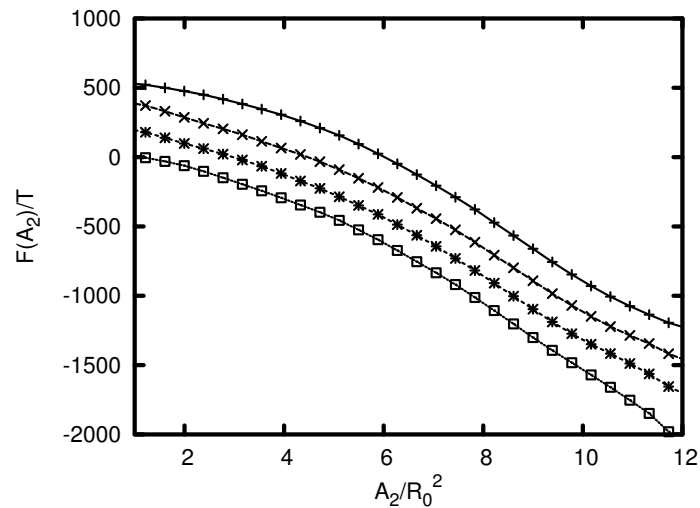


Abbildung 7.13: Die freie Energie  $F$  in Einheiten der thermischen Energie als Funktion von  $A_2$  für  $c_1 = 3200 R_0^{-3}$  und  $\kappa = 1 T$  (+),  $\kappa = 5 T$  (x),  $\kappa = 10 T$  (\*) sowie  $\kappa = 20 T$  (□).

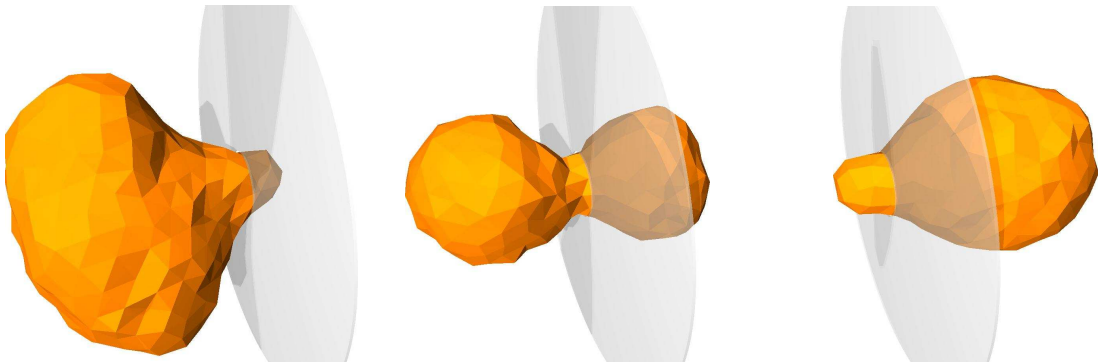


Abbildung 7.14: Typische Konfigurationen für  $c_1 = 3200 R_0^{-3}$ ,  $\kappa = 10 T$ , und – von links nach rechts –  $A_2 = 0.8 R_0^2$ ,  $A_2 = 5.9 R_0^2$  und  $A_2 = 11.3 R_0^2$ .

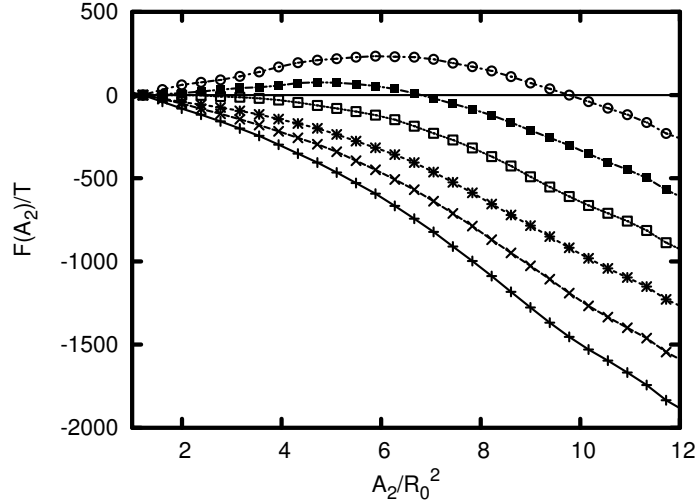


Abbildung 7.15: Die freie Energie  $F$  in Einheiten der thermischen Energie als Funktion der Fläche  $A_2$  auf der Zielseite für  $\kappa = 10T$  und  $c_1 = 2700 R_0^{-3}$  ( $\odot$ ),  $c_1 = 2800 R_0^{-3}$  ( $\blacksquare$ ),  $c_1 = 2900 R_0^{-3}$  ( $\square$ ),  $c_1 = 3000 R_0^{-3}$  ( $*$ ),  $c_1 = 3100 R_0^{-3}$  ( $\times$ ) sowie  $c_1 = 3200 R_0^{-3}$  ( $+$ ).

von  $c_{ex}$  unabhängig von der Biegesteifigkeit sind. Die experimentelle Beobachtung, daß viele Eigenschaften von Vesikeln vorrangig durch die osmotischen Bedingungen beeinflusst werden und fast unabhängig von der Biegesteifigkeit sind, erstreckt sich folglich auf den Durchgang einkomponentiger fluider Vesikeln durch enge Poren. Die kritische Osmolarität, bei der die Energiebarriere verschwindet, ist ungefähr durch  $c_1 \approx 3000 R_0^{-3}$  gegeben (siehe Abbildung 7.15).

### Grenzfall der Kugelkappengestalt

In diesem Abschnitt soll ein einfaches Kriterium für den osmotisch induzierten Durchgang einer fluider Vesikel durch eine enge Pore hergeleitet werden.

Ist die Konzentration osmotisch aktiver Teilchen im Inneren der Vesikel größer als in den die Vesikel umgebenden Flüssigkeiten, so nehmen die Vesikelteile auf beiden Seiten der Pore eine Kugelkappengestalt an. Als notwendiges Kriterium für diesen Fall ergibt sich hinsichtlich der Konzentrationen

$$\frac{N}{V_0} > c_1 > c_2. \quad (7.12)$$

Im folgenden wird davon ausgegangen, daß die Vesikelteile auf beiden Seiten der Pore durch Kugelkappen approximiert werden können. Beschränkt man sich bei der Energie auf die durch die unterschiedlichen Konzentrationen bedingten Beiträge, so ergibt sich

$$F(A_2) = T \left( c_1 V_1 + c_2 V_2 - N \ln \frac{V}{V_{ref}} \right), \quad (7.13)$$

wobei die Teilvolumina  $V_i$  durch

$$V_i = \frac{1}{6\sqrt{\pi}} \sqrt{A_i - \pi R_p^2} (A_i + 2\pi R_p^2) \quad (7.14)$$

gegeben sind und  $V_{ref}$  ein Referenzvolumen ist.

Für einen spontanen Transport durch die Pore muß  $F(A_2)$  monoton fallend sein, wobei angenommen werden soll, daß der Startwert  $A_{2,start}$  von  $A_2$  der Fläche auf der Zielseite



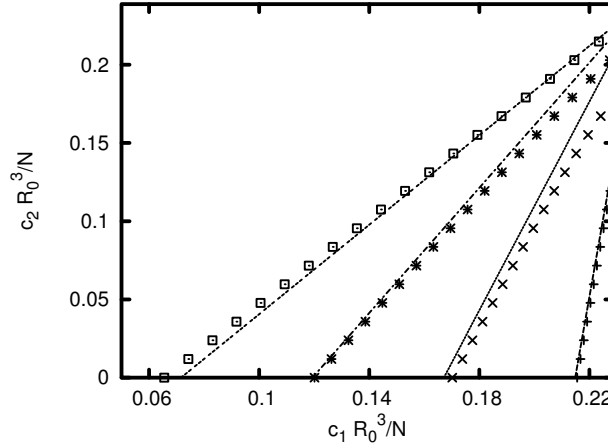


Abbildung 7.16: Grenzfall für einen spontanen Durchgang der Vesikel durch eine enge Pore. Für Wertepaare  $(c_1; c_2)$  unterhalb der eingezeichneten Kurven verschwindet die Energiebarriere für den Durchgang durch die Pore. Es wurden die Porenradien  $R_p = 0.1 R_0$  (+),  $R_p = 0.3 R_0$  (\*),  $R_p = 0.5 R_0$  (x) und  $R_p = 0.7 R_0$  (□) untersucht.

entspricht, die man durch Anlegen einer steifen Kugel mit Radius  $R_0$  an die Pore erhalten würde. Es ist also

$$A_{2,start} = 2\pi R_0^2 \left( 1 - \sqrt{1 - \left( \frac{R_p}{R_0} \right)^2} \right). \quad (7.15)$$

Die Bedingung an die Konzentrationen  $c_1$  und  $c_2$  für eine kontinuierlich abnehmende freie Energie ist im Fall der obigen Annahme an  $A_{2,start}$  in grober Näherung durch

$$c_1 > \frac{3}{4\pi} \frac{N}{R_0^3} \left( 1 - \frac{R_p}{R_0} \right) + c_2 \frac{R_p}{R_0} \quad (7.16)$$

gegeben (siehe Abbildung 7.16).

Das hier erhaltene Kriterium für den spontanen Durchgang der Vesikel durch eine enge Pore läßt sich allerdings nicht mit den Ergebnissen der zuvor durchgeführten Monte-Carlo-Simulationen vergleichen, da dort keine Kugelkappengeometrie vorlag.

#### 7.2.4 Dynamik des Durchgangs durch enge Poren

Der Durchgangsprozeß beinhaltet vier verschiedene Elementarprozesse mit unterschiedlichen Zeitskalen.

Als erstes sei der Durchfluß von Wasser durch die Vesikelmembran genannt, wobei ein Überblick über die Permeabilitätseigenschaften fluider Lipiddoppelschichten und der zugrunde liegenden Mechanismen in [206, 207, 208] zu finden ist. Weitere experimentelle Werte für die scheinbare Permeabilität  $P_f$  sind zum Beispiel in [209, 177] aufgeführt, wobei im allgemeinen  $P_f \simeq 100 \mu\text{m s}^{-1}$  ist. Die zugehörige Zeitskala ist durch

$$t_{perm} = \frac{R_0}{P_f} \quad (7.17)$$

definiert. Der Druckausgleich innerhalb des Vesikelinneren erfolgt auf einer wesentlich kleineren Zeitskala. Ferner ändert beim Durchgang einer Vesikel durch eine enge Pore die globale Geometrie. Die dabei auftretenden Umordnungsprozesse sind durch die Viskosität der

Membran dominiert. Abschätzungen von Waugh zufolge, liegt die Viskosität einer Lipid-doppelschicht zwischen  $10^{-8}$  und  $10^{-7}$  N s m<sup>-1</sup>. Die entsprechende Zeitskala ist für Poren mit einem Radius  $R_p \simeq R_0/2$  durch

$$t_{visc} = \frac{\nu R_0^2}{E_0} = \frac{\nu}{\Delta c RT R_0} \quad (7.18)$$

gegeben<sup>5</sup>. Setzt man  $\nu = 10^{-7}$  N s m<sup>-1</sup>,  $T = 300$  K,  $R_0 = 10$  μm und  $\Delta c = 1$  mmol l<sup>-1</sup>, so ergibt sich

$$\frac{t_{visc}}{t_{perm}} \simeq 4 \cdot 10^{-2}. \quad (7.19)$$

Als letztes seien Effekte durch die endliche Viskosität von Wasser als Umgebungsmedium betrachtet. Die entsprechenden Zeitskalen skalieren mit der dritten Potenz des Vesikelradius. Für freie große Vesikeln mit  $R_0 = 10$  μm liegen die resultierenden Relaxationszeiten von Formfluktuationen im Bereich von wenigen Sekunden [114] bzw. für den Übergang zwischen prolaten und oblaten Formen mit Überwindung einer signifikanten Energiebarriere im Bereich von ca. einer Minute [114, 143]. Diese Zeiten sind damit kleiner als die Zeit  $t_{osm}$  für eine Volumenänderung um 10% einer näherungsweise sphärischen Vesikel mit einem Radius  $R_0 = 10$  μm infolge des Osmolaritätsunterschieds  $\Delta c = 1$  mmol l<sup>-1</sup>

$$t_{osm} \simeq \frac{0.1 \times \frac{4\pi}{3} R_0^3}{P_{mem} \nu_w \times 4\pi R_0^2 \times \Delta c} \simeq 3 \text{ min.} \quad (7.20)$$

Dabei ist  $\nu_w = 18$  ml mol<sup>-1</sup> das molekulare Volumen von Wasser.

Änderungen des Vesikelvolumens laufen damit am langsamsten ab und definieren die relevante Zeitskala für den Gesamtprozeß des Durchgangs fluider Vesikeln durch enge Poren. Im folgenden soll daher angenommen werden, daß sich die Dynamik dieses Prozesses durch  $A_2$  sowie  $V_1$  und  $V_2$  und deren Ableitungen beschreiben läßt. Nur bei Potentialen  $F(A_2)$  mit großen Gradienten sind hydrodynamische Effekte des umgebenden Wassers und rheologische Effekte der Vesikelmembran zu berücksichtigen, und die gesamte Vesikeloberfläche ist zu parametrisieren. Andernfalls erweist sich folgender Ansatz als vernünftig [207]

$$\dot{V} = -\frac{P_{mem}(T)}{T} \left( A_1 \frac{\partial F}{\partial V_1} + A_2 \frac{\partial F}{\partial V_2} \right), \quad (7.21)$$

wobei  $P_{mem}(T)$  die Permeationskonstante der Vesikelmembran bei gegebener Temperatur  $T$  und  $F$  an dieser Stelle die freie Energie als Funktion von  $A_2$ ,  $V_1$  und  $V_2$  ist.

Da Änderungen des Vesikelvolumens der langsamste Prozeß sind, soll im folgenden angenommen werden, daß sich  $A_2$  und  $V_1 - V_2$  instantan so einstellen, daß die freie Energie  $\tilde{F}(V, A_2)$  bei konstantem Gesamtvolumens  $V_1 + V_2 = V$  minimal wird. Es genügt also, die eingeschränkte freie Energie  $\tilde{F}(V, A_2)$  zu betrachten. Gleichung (7.21) reduziert sich hierdurch auf

$$\dot{V} = -A \frac{P_{mem}(T)}{T} \frac{\partial \tilde{F}}{\partial V} \Bigg|_{A_2}. \quad (7.22)$$

Offensichtlich ist die Berechnung von  $\tilde{F}(V, A_2)$  sehr aufwendig, auch unter Verwendung von Histogrammethode[n] [129, 130, 131] in zwei Dimensionen. Es ist jedoch lediglich der Verlauf der freien Energie in der Umgebung einer Trajektorie ( $\langle V|A_2 \rangle, A_2$ ) von Interesse, wobei  $A_2$  der einzige Parameter ist.  $\langle V|A_2 \rangle$  kennzeichnet dabei das mittlere Vesikelvolumen bei gegebenem  $A_2$ . Unter Verwendung der Definition der bedingten Wahrscheinlichkeit [210] ergibt sich für die Wahrscheinlichkeit  $p(V|A_2)$ , ein Vesikelvolumen  $V$  bei

<sup>5</sup> $R = 8.314$  J m<sup>-3</sup> K<sup>-1</sup> ist die universelle Gaskonstante.

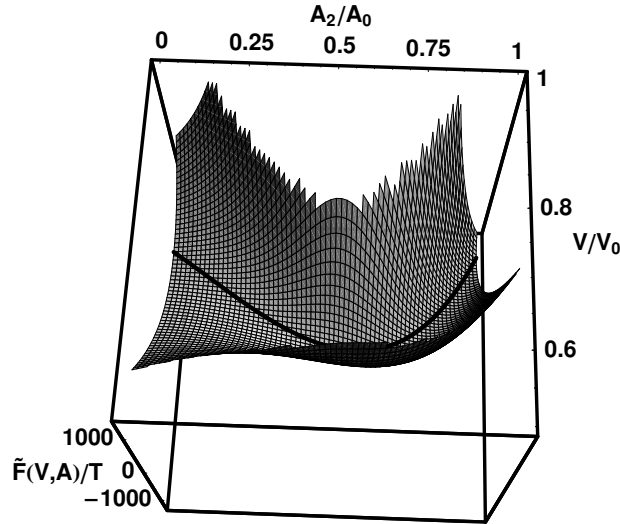


Abbildung 7.17: Die eingeschränkte freie Energie  $\tilde{F}(V, A_2)$  in Einheiten der thermischen Energie als Funktion des Vesikelvolumens  $V$  und der Vesikelfläche  $A_2$  auf der Zielseite für  $\kappa = 7T$ ,  $N = 10000$ ,  $c_1 = 3000 R_0^{-3}$  und  $c_2 = 2650 R_0^{-3}$ . Das Potential wurde nur im Bereich  $\tilde{F}/T \leq 1400$  dargestellt. Die Minima bei konstanter Fläche  $A_2$  sind separat hervorgehoben.

gegebenem Flächenanteil  $A_2$  zu beobachten, die Beziehung

$$p(V|A_2)p(A_2) = p(V, A_2). \quad (7.23)$$

Im Gegensatz zu  $\tilde{F}(V, A_2) = -T \ln p(V, A_2)$  lassen sich alle Faktoren auf der linken Seite von Gleichung (7.23) unter Verwendung von Histogrammethode berechnen, wobei sich  $A_2$  nur innerhalb kleiner Intervalle bewegen darf. Nimmt man  $p(V|A_2)$  als Gauß-verteilt mit Mittelwert  $\langle V|A_2 \rangle$  und Varianz  $\text{Var}[V|A_2]$  an, so läßt sich Gleichung (7.23) umschreiben in

$$\tilde{F}(V, A_2) = F(A_2) + \frac{T}{2} \frac{(V - \langle V|A_2 \rangle)^2}{\text{Var}[V|A_2]} + \frac{T}{2} \ln \text{Var}[V|A_2]. \quad (7.24)$$

Da der letzte Summand betragsmäßig sehr klein ist, kann dieser vernachlässigt werden.

Durch die Pore wird ein Maximalvolumen in Abhängigkeit von  $A_2$  bestimmt, das nicht überschritten werden kann. Dieses ergibt sich aus den Beiträgen für  $V_1$  und  $V_2$  für den Fall, daß die Vesikelteile auf beiden Seiten der Pore Kugelkappengestalt besitzen und läßt sich unmittelbar aus Gleichung (7.14) ableiten. Es wird sich im folgenden aber zeigen, daß diese geometrische Einschränkung an das Vesikelvolumen beim Durchgang durch die Pore nicht verletzt wird und damit nicht explizit durch ein entsprechendes Kastenpotential berücksichtigt werden muß.

Das Potential  $\tilde{F}(V, A_2)$  ist exemplarisch für eine Parameterwahl in Abbildung 7.17 dargestellt.

Sei ein bestimmtes Vesikelvolumen  $V$  vorgegeben. Dann verbleibt  $A_2$  als schnell relaxierende Größe stets im selben lokalen Minimum der freien Energie  $\tilde{F}(V, A_2)$  während der Minimierung der freien Energie bezüglich  $A_2$ . Die resultierende Vesikeloberfläche auf der Zielseite sei mit  $A_2(V)$  bezeichnet. Für die zeitliche Änderung des Vesikelvolumens ergibt sich damit

$$\dot{V} = -P_{mem} A \frac{V - \langle V|A_2(V) \rangle}{\text{Var}[V|A_2(V)]}. \quad (7.25)$$

Dabei beziehen sich der Mittelwert und die Varianz auf thermisches Gleichgewicht, während das aktuelle Volumen eine Nichtgleichgewichts-Größe ist.

Ein erfolgreichen Durchgang der Vesikel durch die enge Pore setzt einen Vorzeichenwechsel der rechten Seite von Gleichung (7.25) voraus, so daß  $A_2$  sich unstetig auf der Zeitskala  $t_{perm}$  der Wasserpermeabilität durch die Vesikelmembran ändern muß. Während für große Volumina  $V \simeq \frac{4\pi}{3} R_0^3$  zwei lokale Minima der freien Energie  $\tilde{F}(V, A_2)$  existieren, können dies für kleine Volumina ein oder zwei sein. Wenn das anfänglich angenommene lokale Minimum mit abnehmendem Volumen verschwindet, muß sich  $A_2$  unstetig ändern, was zu einem im wesentlichen konstanten Wert  $A_2 \simeq A_0$  führt und zu einer nachfolgenden Expansion des Vesikelvolumens. Verschwindet dieses Minimum nicht, bleibt die Vesikel in der Pore stecken.

In Abbildung 7.18 sind die Ergebnisse der soeben beschriebenen zeitlichen Integration von Gleichung (7.25), das heißt der zeitliche Verlauf von Vesikelvolumen  $V$  und Vesikeloberfläche auf der Zielseite  $A_2$ , für eine Wahl von Parametern dargestellt. Die zugrunde liegende freie Energie  $\tilde{F}(V, A)$  wurde für eine Vesikel mit einer 300 Vertices umfassenden Triangulierung, einer Biegesteifigkeit von  $\kappa = 7T$ , einer Anzahl  $N = 10000$  osmotisch aktiver Teilchen im Vesikelinneren und Konzentrationen  $c_1 = 3000 R_0^{-3}$  bzw.  $c_2 = 2650 R_0^{-3}$  ermittelt. Der Porenradius betrug  $R_p = 0.35 R_0$ . Es zeigt sich, daß das Eindringen in die Pore im wesentlichen durch den Verlauf der freien Energie  $\tilde{F}$  sowie in seiner Geschwindigkeit von der Permeationskonstante der Vesikelmembran dominiert werden. Dieser Prozeß erfolgt in einer charakteristischen Zeit  $t_{trans}$ . Nach Erreichen des Volumenminimums, dringt ein Großteil der Vesikeloberfläche auf die Zielseite der Pore vor, und die Vesikel kann sich dort frei bewegen. Entsprechend ist die anschließende Expansion des Vesikelvolumens lediglich durch die Permeationskonstante beeinflusst.

### Eichung der Zeitskala

Für den Vergleich mit Experimenten ist die Eichung der oben eingeführten reduzierten Zeitskala notwendig. Dies kann auf folgende Weise geschehen. Für den Durchgang der Vesikel durch eine enge Pore ist die Verkleinerung des anfänglichen Volumens  $V(t=0)$  auf einen Wert  $\alpha V(t=0)$  notwendig. Dabei erweist sich der Volumenfluß von Wasser durch die Membran als weitgehend konstant (siehe Abbildung 7.18(b)). Die Zeit  $t_{trans}$  bis zum Erreichen des für den Porendurchgang notwendigen reduzierten Volumens läßt sich damit durch folgenden Ausdruck

$$V(t=0) - t_{trans} \dot{V}(t=0) = \alpha V(t=0) \quad (7.26)$$

approximieren. Betrachtet man diese Gleichung sowohl für das reale Experiment wie auch für Simulationen, und eliminiert man den Koeffizienten  $\alpha$ , so ergibt sich für das Verhältnis aus experimenteller und reduzierter Zeitskala in der Simulation

$$\frac{t_{trans,exp}}{t_{trans,sim}} \simeq \frac{\left(\dot{V}(t=0)/V(t=0)\right)_{sim}}{\left(\dot{V}(t=0)/V(t=0)\right)_{exp}} \quad (7.27)$$

$$\simeq \frac{(P_{mem}/R_0 \Delta c)_{sim}}{(P_{mem}/R_0 \Delta c)_{exp}}. \quad (7.28)$$

Unter Verwendung von  $t_0 = (R_0^4/P_{mem})_{sim}$ ,  $\Delta c_{sim} = 350 R_0^{-3}$  und  $t_{trans,sim} \simeq 2.7 \cdot 10^{-4} t_0$  sowie  $P_f = P_{mem}/\nu_w = 100 \mu\text{m s}^{-1}$  für die scheinbare Permeabilität [177],  $\nu_w = 18 \text{ ml/mol}$  für das molekulare Volumen von Wasser,  $R_{0,exp} = 10 \mu\text{m}$  für den Vesikelradius und  $\Delta c_{exp} = 1 \text{ mmol l}^{-1}$  für die Konzentrationsdifferenz erhält man für Raumtemperatur eine Eindringzeit in die enge Pore von

$$t_{trans,exp} \simeq 9 \text{ min}. \quad (7.29)$$

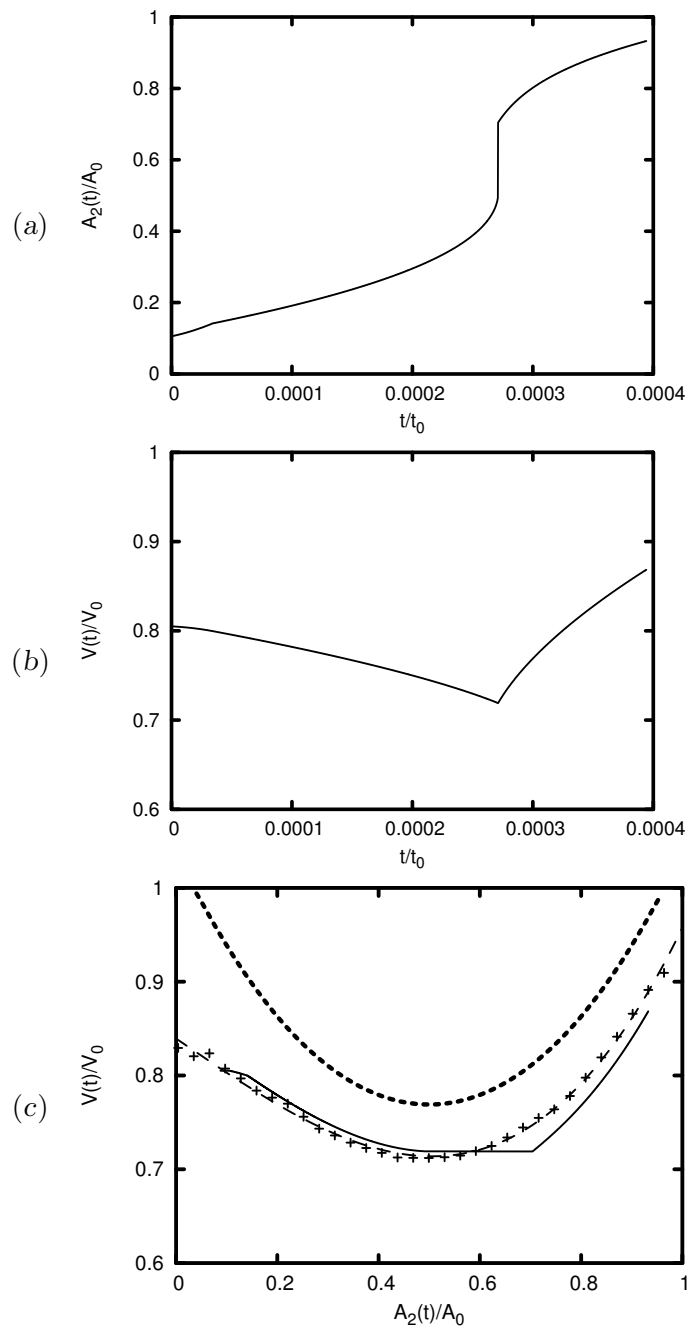


Abbildung 7.18: (a), (b): Zeitlicher Verlauf des Anteils  $A_2$  der Vesikeloberfläche auf der Zielseite der Pore bzw. des Vesikelvolumens.

(c): gepunktete Linie: Durch die Porengeometrie bestimmtes Maximalvolumen bei verschwindender Biegesteifigkeit, gestrichelte Linie: Mittleres Vesikelvolumen  $\langle V|A_2 \rangle$  bei gegebenem Flächenanteil  $A_2$ , durchgezogene Linie: Resultierender Verlauf des Vesikelvolumens als Funktion des Flächenanteils  $A_2$ .

Integriert man Gleichung (7.25) unter Verwendung der Mittelwerte und Varianzen, die sich aus den Simulationen für  $c_1 = 3100 R_0^{-3}$  ergeben, so erhält man  $t_{trans,sim} \approx 2.2 \cdot 10^{-4} t_0$  und damit einen ähnlichen Wert für  $t_{trans,exp}$ .

In Anbetracht der Größenordnung der so abgeschätzten realen Eindringzeiten sollten derartige Prozesse auch in realen Experimenten beobachtet werden können.

### 7.2.5 Zweikomponentige Vesikeln

Im folgenden soll der Einfluß geringer Mengen einer zweiten Komponente in der Zusammensetzung der Vesikelmembran untersucht werden, die eine spontanen Krümmung besitzen. Bereits kleine Mengen einer zweiten Komponente bewirken eine größere Flexibilität der Vesikelmembran [97]. Insofern ist auch eine Reduzierung von Barrieren der freien Energie für den Durchgang von Vesikeln durch enge Poren anzunehmen [211, 197]. Im Falle positiver Beiträge der zweiten Komponente zur lokalen spontanen Krümmung ist insbesondere eine Akkumulation dieser in Bereichen großer mittlerer Krümmung zu erwarten, das heißt in den Bereichen, die als erste in die Pore eintreten bzw. diese als letzte verlassen. Dies wird als Grund für die große Flexibilität mehrkomponentiger fluider Vesikeln angesehen, der diesen Vesikeln starke Änderungen des reduzierten Volumens im Gegensatz zu anderen kolloidalen Teilchen ermöglicht [195].

Um scharfe Knicke in der Triangulierung nahe dem Poreneintritt zu vermeiden, die im Falle negativer spontaner Krümmungen Monte-Carlo-Simulationen sehr aufwendig machen, wird im folgenden eine Pore mit endlicher Wanddicke  $2R_w$  und abgerundeten Rändern mit konstantem Radius  $R_w = 0.2 R_0$  betrachtet (siehe Abbildung 7.19).

Hierdurch werden bei in Poren eindringenden Vesikeln negative mittlere Krümmungen weitestgehend vermieden.

Die Biegesteifigkeit sei nachfolgend konstant  $\kappa = 20 T$ , und die Kopplung der Dichte  $n_{sc}$  der zweiten Komponente mit der spontanen Krümmung  $M_{sp}$  werde durch Gleichung (2.20) beschrieben, also

$$M_{sp} = c_{sp} n_{sc}, \quad (7.30)$$

wobei  $n_{sc}$  die lokale Flächendichte der zweiten Komponente ist und  $c_{sp}$  ein konstanter Kopplungsparameter. Ferner seien lediglich entropische Effekte hinsichtlich der Flächen-

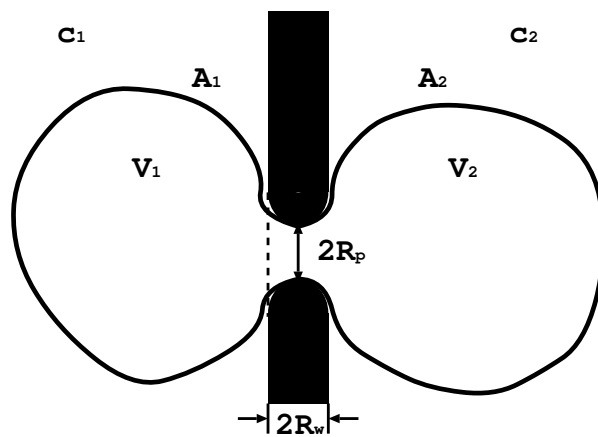


Abbildung 7.19: Modellsystem für die Untersuchung des Durchgangs einer fluiden Vesikel mit konstanter Oberfläche  $A$  durch eine enge Pore mit Radius  $R_p$  und Länge  $2R_w$ . Vesikeloberfläche  $A$  und -volumen  $V$  sind in bezug auf die die Porenmitte beschreibende Ebene aufgeteilt und mit Indizes 1 bzw. 2 versehen. Entsprechende Indizes erhalten die Konzentrationen  $c_i$  osmotisch aktiver Teilchen außerhalb der Vesikel beiderseits der Pore.

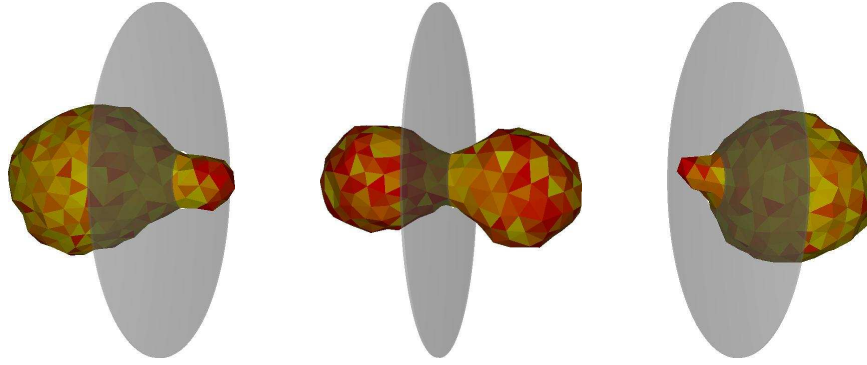


Abbildung 7.20: Typische Konfigurationen einer fluiden Vesikel mit Einschlüssen, die positive spontane Krümmungen bewirken, beim Durchgang durch eine enge Pore. Die Modellparameter haben folgende Werte:  $c_1 = 2800 R_0^{-3}$ ,  $\kappa = 20 T$ ,  $N_{sc} = 0.3$  sowie – von links nach rechts –  $A_2 = 1.3 R_0^2$ ,  $A_2 = 6.1 R_0^2$  bzw.  $A_2 = 11.8 R_0^2$ . Rote Bereiche bedeuten eine relativ große lokale Konzentration der zweiten Komponente.

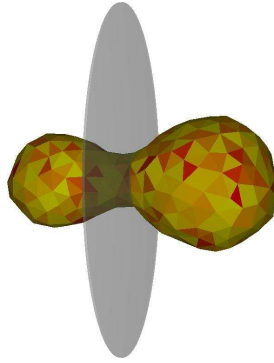


Abbildung 7.21: Durchgang einer fluiden Vesikel durch eine enge Pore. Die Vesikel besitzt Einschlüsse, die negative spontane Krümmungen bewirken (mit  $N_{sc} = 1$  und  $c_{sp} = -20 R_0$ ). Für die Konzentrationen osmotisch aktiver Teilchen wurde  $c_1 = 3000 R_0^{-3}$  und  $c_2 = 2600 R_0^{-3}$  gesetzt. In diesem Fall konnte keine Anreicherung der zweiten Komponente in bestimmten Membranbereichen beobachtet werden.

dichte  $n_{sc}$  angenommen, die einen Beitrag (siehe Gleichung (2.21))

$$\Delta E_{sc} = T \oint n_{sc} \ln \frac{n_{sc}}{\bar{n}_{sc}} dA \quad (7.31)$$

gegenüber einer homogenen Verteilung ( $n_{sc} = \bar{n}_{sc}$ ) liefern. Die absolute Stoffmenge von Molekülen der zweiten Komponente in der Vesikelmembran sei mit  $N_{sc}$  bezeichnet.

Für die Untersuchung des Einflusses positiver spontaner Krümmungen, die lokal konvexe Formen bevorzugen, wurde exemplarisch  $c_{sp} = 20 R_0$  gewählt. Wie erwartet ergibt sich eine Akkumulation der zweiten Komponente in den Bereichen der Vesikelmembran, die als erste in die Pore eindringen bzw. diese als letzte verlassen (siehe Abbildung 7.20). Bei vollständig in die Pore eingedrungenen Vesikeln befinden sich die Bereiche größter mittlerer Krümmung in den beiden sphärischen Vesikelteilen beiderseits der Pore, auf die sich die Teilchen der zweiten Komponente verteilen. Diese Akkumulation reduziert mit steigender Menge  $N_{sc}$  die Barriere der freien Energie für  $c_1 = 2800 R_0^{-3}$ , wie in Abbildung 7.22 dargestellt. Dies betrifft insbesondere das anfängliche Eindringen in die Pore. Für  $c_1 = 3000 R_0^{-3}$  verschwindet diese Barriere fast. Bei noch höheren Konzentrationen ( $c_1 = 3200 R_0^{-3}$ ) auf der Startseite der Pore, bei denen die freie Energie  $F(A_2)$  bereits

streng monoton fallend ist, wird deren Verlauf noch steiler.

Simulationen bei denen  $c_{sp} = 20 R_0$  durch  $c_{sp} = -20 R_0$  ersetzt wurde, das heißt, bei denen die zweite Komponente eine negative spontane Krümmung besitzt, zeigen keine Akkumulation der zweiten Komponente, sondern, wie in Abbildung 7.21 dargestellt, eine gleichmäßige Verteilung über die gesamte Vesikelmembran. Dieses Verhalten läßt sich mit der Tatsache erklären, daß negative spontane Krümmungen im wesentlichen nur dann auftreten können, wenn der Porenradius erheblich kleiner als der Vesikelradius ist.

### 7.2.6 Zusammenfassung

In dem vorangegangenen Abschnitt konnte gezeigt werden, daß sich Vesikeln mit Hilfe experimentell realistischer osmotischer Drücke durch enge Poren bewegen lassen. Für den Fall, daß die Konzentration osmotisch aktiver Teilchen in der Vesikel stets höher als  $c_1$  und  $c_2$  auf den beiden Seiten ist, konnte ein Kriterium für den spontanen Ablauf des Transports durch die Pore formuliert werden. Als charakteristische Zeitskala für den Transport von Vesikeln mit Radien im Bereich von Mikrometern ergab sich ein Wert von wenigen Minuten. Die Verwendung einer zweiten Komponente mit positiver spontaner Krümmung bewirkt die Absenkung bzw. das Verschwinden von Energiebarrieren für den Transport durch die Pore oder beschleunigt diesen. Es tritt eine Akkumulation der zweiten Komponente in Bereichen großer mittlerer Krümmung auf. Besitzt die zweite Komponente eine negative spontane Krümmung, läßt sich keiner der angeführten Effekte beobachten.



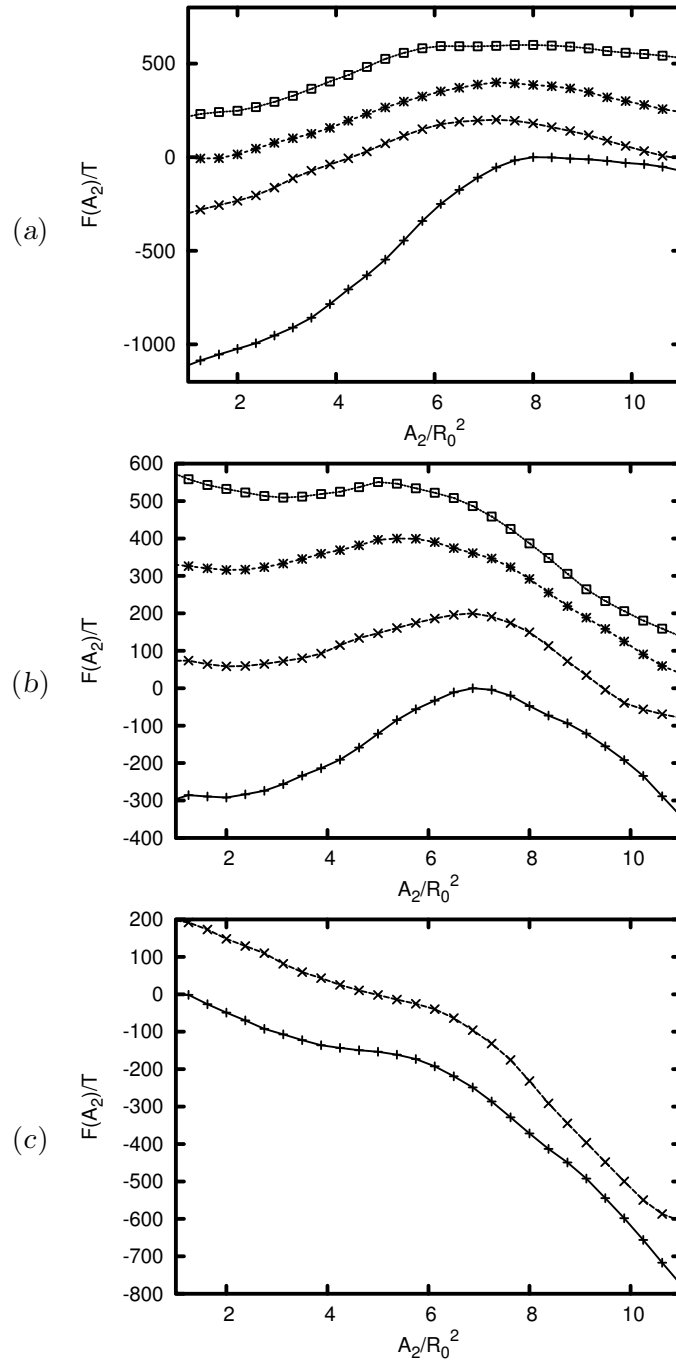


Abbildung 7.22: Verlauf der freien Energie  $F(A_2)$  in Einheiten der thermischen Energie für Mengen  $N_{sc}$  von Einschlüssen in der Vesikelmembran ( $N_{sc} = 0$  (+),  $N_{sc} = 0.3$  (x),  $N_{sc} = 0.9$  (\*),  $N_{sc} = 1.2$  ( $\square$ )) und unterschiedliche Konzentrationen osmotisch aktiver Teilchen auf der Startseite: (a):  $c_1 = 2800 R_0^{-3}$ , (b):  $c_1 = 3000 R_0^{-3}$ , (c):  $c_2 = 3200 R_0^{-3}$ .

## 7.3 Durchgang von Vesikeln durch große Poren

### 7.3.1 Liposome und Tumorthherapie

Die Anwendung von fluiden Vesikeln<sup>6</sup> als Transport-Container ist von großem Interesse in der pharmazeutischen Forschung. Prominentestes Anwendungsbeispiel ist die Einkapselung von Medikamenten zur Tumorbehandlung. Hierbei wird ausgenutzt, daß eine Vielzahl von Tumortypen unregelmäßig geformte Blutgefäße mit Lücken zwischen Endothelzellen besitzt [212, 213, 214]. Durch diese Lücken können die Vesikeln in das Tumorgewebe eindringen und sich dort stärker als in anderen Geweben anreichern. Dabei zeigt sich, daß die Deformationseigenschaften der Vesikeln wesentlichen Einfluß auf die Akkumulation im Tumorgewebe haben [215, 216, 217]. Da die gewünschte zytotoxische Wirkung der ange-

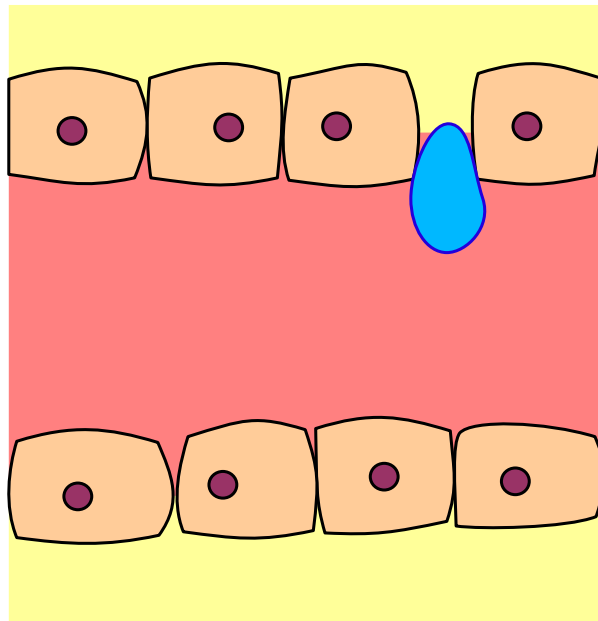


Abbildung 7.23: Schematische Darstellung des Durchgangs einer fluiden Vesikel (blau) durch eine unregelmäßig mit Endothelzellen (orange) ausgekleidete Blutgefäßwand in einem Tumor.

wendeten Chemotherapeutika auf Tumorzellen jedoch nicht primär von der Einwirkdauer, sondern von der lokal erreichten Maximalkonzentration abhängt [218, 219] und die mittlere Verweilzeit der Vesikeln im Tumorgewebe wesentlich länger als im Blutkreislauf ist, erweist sich insbesondere aus pharmakokinetischer Sicht<sup>7</sup> eine Optimierung des transvaskulären Vesikeltransports als notwendig. Dies kann einerseits, wie im folgenden untersucht, durch Veränderung der Deformationseigenschaften der fluiden Vesikeln erreicht werden, andererseits durch lokale Erwärmung des Tumors [221] und durch Verwendung thermosensitiver Vesikeln [221].

Auf Grund der geringen Größe der Vesikeln ( $\sim 100$  nm) können deren Konfigurationen *in vivo* und *in vitro* nicht mit Lichtmikroskopie untersucht werden. Computersimulationen des transvaskulären Transports von Vesikeln haben daher ein großes Potential bei der Optimierung der Vesikeln. Dies bedeutet aus physikalischer Sicht die Minimierung von Barrieren der freien Energie während des Eindringprozesses in das Gewebe.

<sup>6</sup>Im Zusammenhang mit der hier beschriebenen Anwendung kommen im allgemeinen Phospholipid-Vesikeln zum Einsatz. In der Literatur werden diese ausnahmslos als „Liposome“ bezeichnet. Jedoch soll hier wie in den anderen Kapiteln vorrangig der Oberbegriff „Vesikel“ verwendet werden.

<sup>7</sup>siehe El-Kareh und Secomb [220] für eine mathematische Beschreibung

Im Vorfeld zu entsprechenden Simulationen, deren Ergebnisse in den Abschnitten 7.3.4 und 7.3.5 dargestellt sind, soll jedoch auf wichtige Aspekte der Membranzusammensetzung, der histologischen Gegebenheiten und mögliche, den Eindringprozeß treibende Kräfte eingegangen werden, die wichtig für die Modellierung sind.

### 7.3.2 *Stealth* Liposome und Tumorphistologie

Vor etwa 25 Jahren haben Allen und Papahadjopoulos unabhängig voneinander beobachtet, daß Vesikeln, deren Membran spezielle Polymere enthält, wesentlich längere Verweilzeiten im Blutkreislauf und damit eine größere Anreicherungsrate in Tumorgewebe zeigen als konventionelle Vesikeln [222, 223, 224]. Als besonders geeignet erwies sich elektrisch neutrales Polyethylenglycol (PEG) mit Polymergrößen zwischen 500 und 2000 Da <sup>8</sup>. Auf Grund der reduzierten Aufnahme der Vesikeln durch das Immunsystem, wurde diesen Vesikeln der Markenname „*Stealth*® Liposome“ gegeben.

Der diesem *in vivo* Effekt zugrunde liegende Mechanismus wurde detailliert von Miller und Witten [225] sowie Hristova und Needham [226, 227] untersucht. Simulationen von PEG an Oberflächen wurden von Rex et al. [228] durchgeführt. Grobe Angaben für das Design von *Stealth* Liposomen finden sich zum Beispiel bei Hristova und Needham [227] (siehe auch [229]): Um die Bildung von Mizellen zu vermeiden, darf der Stoffmengenanteil an PEG in der Vesikelmembran 8 mol-% nicht übersteigen. Bei höheren PEG-Konzentrationen nimmt die Zugfestigkeit der Membran signifikant ab. Es wird angenommen, daß die Lipiddoppelschicht am stabilsten ist im Übergangsbereich vom *Mushroom* zum *Brush* Regime mit einer PEG-Konzentration um 5 mol-%. Bei Polymerlängen, die groß im Vergleich zur Debye-Hückel-*Screening*-Länge sind, wirken effektiv zwischen den Vesikeln und ihrer Umgebung lediglich van-der-Waals-Kräfte.

Durch das Einfügen von PEG-Polymeren entsteht beiderseits der Vesikelmembran eine Schicht mit einer Dicke zwischen  $\sim 3.5$  nm im *Mushroom* Regime und  $\sim 5$  nm im *Brush* Regime. Der daraus resultierende Zuwachs  $\kappa - \kappa_0$  der Biegesteifigkeit skaliert mit

$$(\kappa - \kappa_0) \sim N_{polymer}^3, \quad (7.32)$$

wobei  $N_{polymer}$  die Polymerlänge ist [225, 226]. Dies ist jedoch ein im Vergleich zur Erzeugung einer spontanen Krümmung marginaler Effekt [230, 231]. Auf Grund der konvexen Form der Vesikeln ist die PEG-Dichte auf der Innenseite kleiner als auf der Außenseite, was eine positive spontane Krümmung der Membran bewirkt, die im folgenden als konstant und homogen auf der Vesikeloberfläche angenommen wird.

Der Hauptgrund für die gesteigerte Aufnahme von Vesikeln durch das Tumorgewebe liegt in einer mikrovaskulären Permeabilität, die bei verschiedenen Tumorarten beobachtet werden konnte [212, 213, 232, 233, 234]. Sie tritt auch in entzündetem Gewebe auf, zum Beispiel der Lunge [235]. Die hierfür verantwortlichen Poren zwischen den Endothelzellen weisen Durchmesser auf zwischen 50–70 nm [212, 213] und – in Extremfällen – 780 nm [234, 236] oder sogar 2  $\mu$ m [237] in Tumorgeweben sowie bis zu 0.5  $\mu$ m in entzündetem Lungengewebe. Diese Werte geben die Maximalgröße aufgenommener Vesikeln an. Die Deformierbarkeit von Vesikeln spielt daher eine entscheidende Rolle für deren transvaskulären Transport [216].

Andererseits scheinen weitere mögliche Einflüsse aus der räumlichen Umgebung klein zu sein. Die Zeitkonstante für den transvaskulären Transport ist annähernd unabhängig vom Vorhandensein geladener Moleküle in der Lipiddoppelschicht und hängt hingegen stark von der Vesikelgröße ab [215]. Die elektrostatische Wechselwirkung ist durch das PEG abgeschirmt. Da *Stealth* Liposome nicht miteinander verklumpen, sei angenommen,

<sup>8</sup>1 Da (Dalton) entspricht einer atomaren Masseneinheit 1 u.

daß auch die van-der-Waals-Wechselwirkung mit den Endothelzellen der Blutgefäßwand klein ist. Dies widerspricht der Annahme starker Adhäsion in einer neueren Arbeit von Tordeux und Fournier [205] zum Durchgang von Vesikeln durch Poren. Ferner ist der Durchmesser der Blutgefäße mit  $\sim 10\ \mu\text{m}$  wesentlich größer als der Vesikeldurchmesser ( $\sim 100\ \text{nm}$ ) [217], so daß die Gefäßwand als planar angesehen werden kann. Während in gesundem Gewebe der hydrostatische Druck etwas geringer ist als in den dort vorhandenen Blutgefäßen, wirkt dem Blutdruck ein annähernd gleich großer hydrostatischer Druck in Tumorgeweben entgegen [214, 238, 217, 239]. Der erhöhte Druck läßt sich medikamentös durch kleine Moleküle senken, die in das Tumorgewebe diffundieren können [217, 239]. Die auftretenden Druckdifferenzen liegen im Bereich weniger mmHg<sup>9</sup> [214], so daß sich bei Raumtemperatur unter Verwendung von  $\Delta P \simeq 300\ \text{Pa}$  als typische Druckdifferenz und  $R_0 = 100\ \text{nm}$  als Vesikelradius eine charakteristische Energiedifferenz von  $\Delta E \simeq 1\ T$  ergibt.

Trotz all dieser Beobachtungen ist relativ wenig über die tatsächlichen Triebkräfte für das Eindringen der Vesikeln in das Tumorgewebe bekannt. Nagayasu et al. [216] nehmen ein durch Blutkörperchen bewirktes Aussieben an, wie es von Wisse et al. [240] für den Filterungsprozeß in der Leber vorgeschlagen wurde. Es ist jedoch nicht klar, in welcher Art und Weise die roten Blutkörperchen mit Durchmessern  $\sim 8\ \mu\text{m}$  die Bedingungen entlang der Gefäßwand beeinflussen [241, 242, 243] und wie die Vesikeln nahe der Gefäßwand oder in den Poren mit dem Strömungsfeld wechselwirken.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß der transvaskuläre Transport von *Stealth* Liposomen stark durch deren Deformationseigenschaften beeinflusst wird und damit stark von der PEG-Konzentration und von der Biegesteifigkeit abhängt. Neuere Rechnungen von Marsh [244] zeigen, daß durch die Beschichtung von Vesikeln mit PEG Zunahmen der Biegesteifigkeit bis  $20\ T$  und spontane Krümmungen bis  $M_{sp} = 1/100\ \text{nm}$  möglich sein sollen.

### 7.3.3 Modellierung fluider Vesikeln in großen Poren

Die Vesikeln wurden, wie in Kapitel 3 beschrieben, durch triangulierte Flächen modelliert, deren elastische Energie durch den diskretisierten Canham-Helfrich-Ausdruck für die Biegeenergie (2.1) gegeben ist. Die als homogen angenommene spontane Krümmung wurde explizit vorgegeben. Bei Vorhandensein osmotisch aktiver Teilchen ist desweiteren ein durch Gleichung (2.6) gegebener Energiebeitrag  $E_{osm}$  zu berücksichtigen. Zur Untersuchung der elastischen Eigenschaften dieser triangulierten Vesikeln ohne Einwirken äußerer Felder wurde genau wie in Kapitel 5 vorgegangen. Die verwendeten Triangulierungen beinhalteten 500 Vertices.

Zur Untersuchung des Eindringverhalten der Vesikeln in die Poren wurde wie im vorherigen Abschnitt die freie Energie in Abhängigkeit der in der Pore befindlichen Fläche  $A_2$  (siehe Abbildung 7.24) ermittelt. Jedoch wurde die hier betrachtete Pore als breit angenommen mit Radien  $R_p$ , die nur wenig kleiner sind als der Vesikelradius  $R_0$  für freie Vesikeln. Die Pore hatte zudem eine endliche Länge, die groß gegenüber dem Porenradius ist. In Anlehnung an reale physiologische Bedingungen wurde eine Konzentration osmotisch aktiver Teilchen von  $c_{ex} = 2700\ R_0^{-3}$  außerhalb der Vesikel und eine Anzahl von  $N = 10000$  derartiger Teilchen innerhalb der Vesikel angenommen. Die Triangulierung der Vesikeloberfläche beinhaltete bei den Eindringexperimenten 300 Vertices, und die Monte-Carlo-Schritte wurden wie in Abschnitt 7.2.2 ausgewählt.

---

<sup>9</sup>1 mmHg=1.333224 hPa

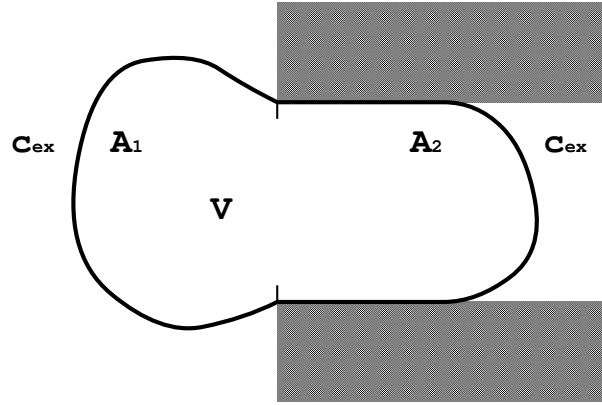


Abbildung 7.24: Vesikel in einer langen Pore. Der Porenradius  $R_p$  ist vergleichbar mit dem Radius  $R_0$  einer entsprechenden freien Vesikel. In der Vesikel befinden sich  $N = 10000$  osmotisch aktive Teilchen, und die Vesikel befindet sich in einer Flüssigkeit mit einer Konzentration  $c_{ex} = 2700 R_0^{-3}$  von osmotisch aktiven Teilchen. Die Vesikeloberfläche wird – wie angedeutet – in Bereiche außerhalb und innerhalb der Pore aufgeteilt und mit Indizes 1 bzw. 2 versehen.

### 7.3.4 Spontane Asphärität im Falle positiver spontaner Krümmungen

Bevor auf die Wechselwirkung zwischen Vesikel und Pore eingegangen wird, soll der Einfluß einer homogenen positiven spontanen Krümmung in der Membran auf die Vesikelform untersucht werden.

Wie von Seifert et al. [64] für verschwindende Temperatur gezeigt, sind fluide Vesikeln mit positiver homogener spontaner Krümmung  $M_{sp}$  und einem reduzierten Volumen  $v$  wenig kleiner als eins prolat. Im Falle verschwindender spontaner Krümmung gehen die stabile prolate Form und die metastabile Form im Grenzfall  $v$  gegen eins in die Kugelform über. Bei endlicher Temperatur und nicht allzu großen osmotischen Drücken haben diese Vesikeln jedoch anisotrope Formen (siehe Kapitel 5, [245]).

Um den Einfluß positiver spontaner Krümmungen auf diese Vesikeln zu klären, wurden zu den in Kapitel 5 analoge Simulationen mit homogener positiver spontaner Krümmung  $M_{sp}$  durchgeführt und die eingeschränkte freie Energie als Funktion der Asphärität  $d$  ermittelt. Ohne Berücksichtigung osmotischer Effekte ergeben sich Freie-Energie-Profile, die mit zunehmenden spontaner Krümmung flacher werden (Abbildung 7.25). Die Differenz der freien Energien  $F(0.45) - F(0.1)$ , zum Beispiel, nimmt im Fall  $\kappa = 20T$  von ca.  $50T$  für  $M_{sp} = 0$  auf  $20T$  für  $M_{sp} = 2/R_0$  ab. Folglich können annähernd sphärische Vesikeln mit positiver homogener spontaner Krümmung leichter in prolate Formen deformiert werden als mit verschwindender spontaner Krümmung. Weiterhin ist das Freie-Energie-Profil für  $M_{sp} = 0$  annähernd symmetrisch, während es mit steigender positiver spontaner Krümmung zunehmend asymmetrisch wird, wobei prolate Formen bevorzugt werden. Es ergibt sich zum Beispiel  $F(-0.45) - F(0.45) \approx 20T$  für  $\kappa = 20T$  und  $M_{sp} = 2/R_0$ . Für moderate Deformationen  $0.1 \leq |d| \leq 0.4$  kann die Vesikelform durch ein Rotationsellipsoid mit vorgegebener Oberfläche  $A = 4\pi R_0^2$  approximiert werden, so daß das reduzierte Volumen in guter Näherung durch

$$v \approx 1 - \frac{4}{15}d^2 \quad (7.33)$$

gegeben ist. Folglich entsprechen jedem reduzierten Volumen  $v$  jeweils zwei Asphäritäten  $d_+ > 0$  und  $d_- < 0$ , die sich nur in ihren Vorzeichen unterscheiden, wobei  $F(d_+) < F(d_-)$  ist. Vesikeln mit positiver homogener spontaner Krümmung und vorgegebenem reduziertem

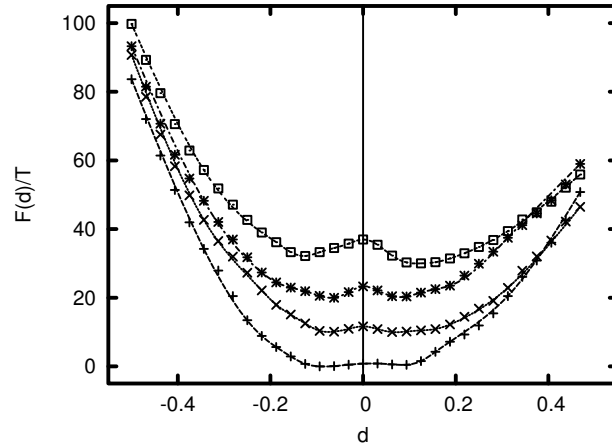


Abbildung 7.25: Die eingeschränkte freie Energie  $F$  in Einheiten der thermischen Energie als Funktion der Asphärizität  $d$  für  $\kappa = 20T$  und  $M_{sp} = 0$  (+),  $M_{sp} = 0.6$  ( $\times$ ),  $M_{sp} = 1$  ( $*$ ) sowie  $M_{sp} = 2$  ( $\square$ ). Osmotische Effekte wurden nicht berücksichtigt.

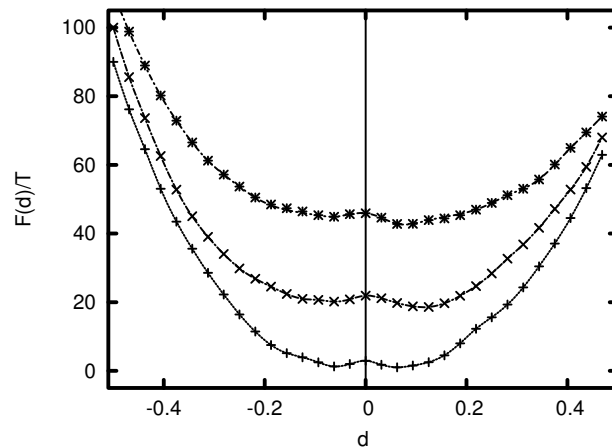


Abbildung 7.26: Freie Energie  $F$  als Funktion der Asphärizität  $d$  in Einheiten der thermischen Energie für eine Vesikel mit  $\kappa = 20T$ , deren Volumen durch osmotische Einflüsse ( $N = 10000$ ,  $c_{ex} = 2700 R_0^{-3}$ ) stabilisiert ist. Die Membran hat eine homogene spontane Krümmung von  $M_{sp} = 0$  (+),  $M_{sp} = 0.5/R_0$  ( $\times$ ) bzw.  $M_{sp} = 2/R_0$  ( $*$ ).

Volumen sind damit auch im Falle endlicher Temperaturen vorrangig prolat.

Ergebnisse von Simulationen unter Berücksichtigung der im folgenden angenommenen osmotischen Bedingungen ( $N = 10000$  osmotisch aktive Teilchen im Vesikelinneren,  $c_{ex} = 2700 R_0^{-3}$  als Konzentration der osmotisch aktiven Teilchen außerhalb der Vesikel) sind in Abbildung 7.26 dargestellt und liefern analoge Resultate.

### 7.3.5 Reduzierung der Energiebarriere

Die Ergebnisse des letzten Abschnitts legen die Vermutung nahe, daß Vesikeln mit homogener positiver spontaner Krümmung eine geringere Energiebarriere beim Eindringen in eine breite Pore zu überwinden haben als gleichartige Vesikeln mit verschwindender spontaner Krümmung.

Zur Unterstützung dieser Vermutung wurde die eingeschränkte freie Energie in Abhängigkeit des in der Pore bereits befindlichen Flächenanteils  $A_2$  unter Verwendung der in Abschnitt 4.5 dargestellten Methoden berechnet. Simulationen für Vesikeln mit ei-

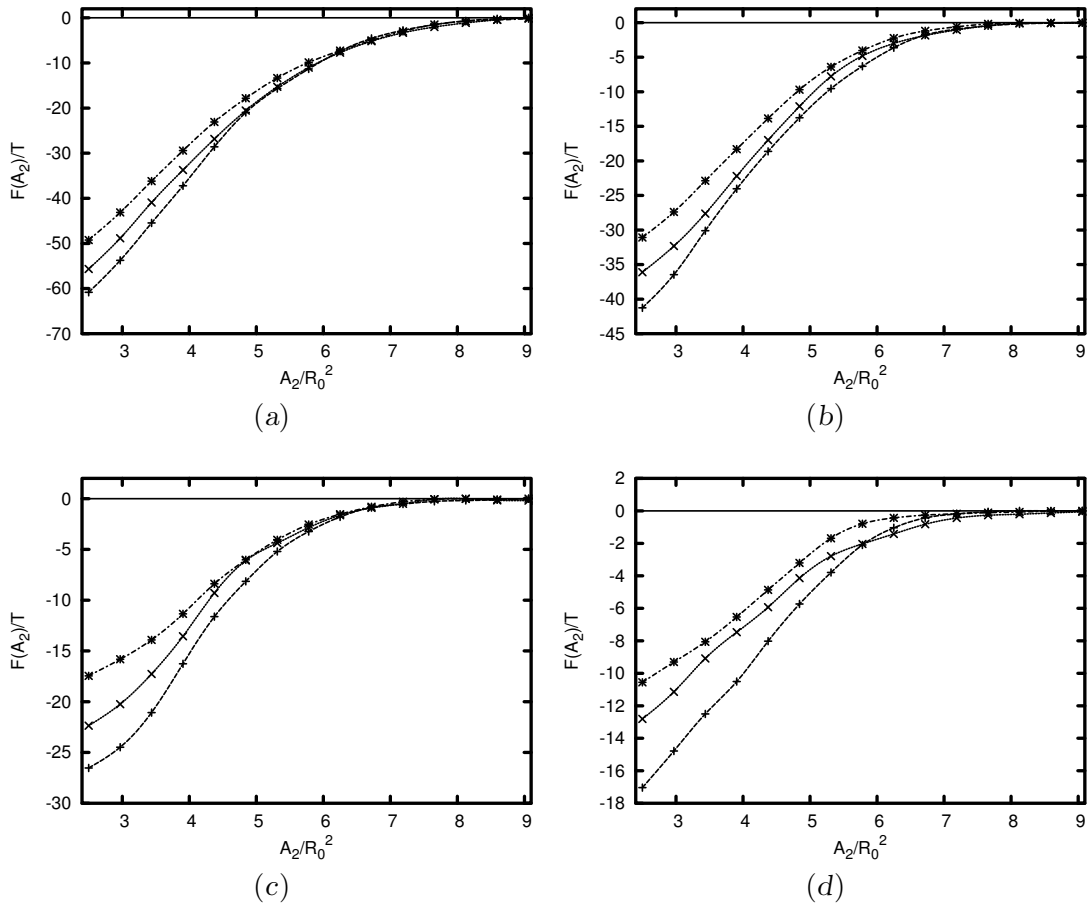


Abbildung 7.27: Die freie Energie in Einheiten der thermischen Energie als Funktion der Teilfläche  $A_2$  in der Pore für unterschiedliche Porenradien (a)  $R_p = 0.8 R_0$ , (b)  $R_p = 0.85 R_0$ , (c)  $R_p = 0.9 R_0$  sowie (d)  $R_p = 0.95 R_0$  und unterschiedliche homogene spontane Krümmungen  $M_{sp} = 0$  (+),  $M_{sp} = 0.4/R_0$  (x) und  $M_{sp} = 0.8/R_0$  (\*).

ner Biegesteifigkeit von  $\kappa = 20 T$  zeigen in der Tat eine Abnahme der Energiebarriere bei festem Porenradius  $R_p$  (siehe Abbildung 7.27). Im Falle  $\kappa = 20 T$  und Porenradien von  $0.8 \leq R_p/R_0 \leq 0.95$  bewirkt eine homogene spontane Krümmung von  $M_{sp} = 0.8/R_0$  gegenüber verschwindender spontaner Krümmung eine Reduzierung der Energiebarriere für das Eindringen in die Pore um  $\Delta F \approx 10 T$ . Für geringere Biegesteifigkeiten von  $\kappa = 10/15 T$  ergibt sich ein ähnliches Verhalten.

Daß diese Barriere bei konstanter spontaner Krümmung mit steigendem Porenradius abnimmt, folgt unmittelbar aus dem Wachstum der Menge der zulässigen Konfigurationen in der eingeschränkten Zustandssumme.

Der oben angesprochene Gewinn an Flexibilität durch positive spontane Krümmungen läßt sich auch gut an typischen Konfigurationen aus der Monte-Carlo-Simulation illustrieren. Solche sind in Abbildung 7.28 dargestellt und zeigen, daß die Vesikeln bei verschwindender spontaner Krümmung mit zunehmender Eindringtiefe in die Pore zunehmend gestrafft werden. Bei positiver spontaner Krümmung bleibt der Vesikelteil außerhalb der Pore relativ flexibel.

Für Porenradien größer als 0.95 liegen die aufzuintegrierenden Meßwerte der verallgemeinerten Kraft  $f(A_2) = -\frac{\partial F}{\partial A_2}$  im Bereich mit  $-2T/R_0^2$  bis  $1T/R_0^2$  und sind klein gegenüber zu erwartenden Abweichungen von den wahren Werten, so daß sie keine Aussagekraft besitzen.

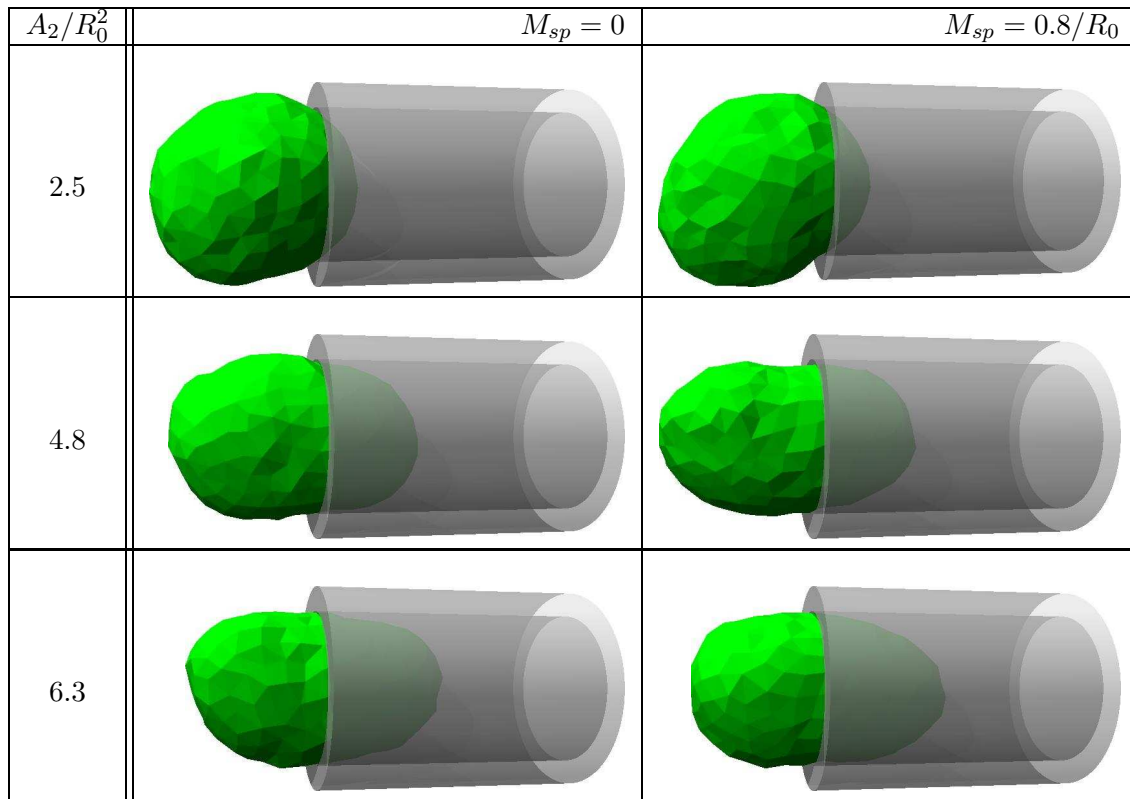


Abbildung 7.28: Typische Konfigurationen von Vesikeln in breiten, langen Poren (hier mit Radius  $R_p = 0.8 R_0$ ) für zwei verschiedene homogene spontane Krümmungen  $M_{sp}$  und verschiedene Eindringtiefen.

### 7.3.6 Diskussion

Mit den soeben beschriebenen Simulationen konnte gezeigt werden, daß Vesikeln mit homogener positiver spontaner Krümmung flexibler sind als ohne. Ferner kann mit steigender positiver spontaner Krümmung die Energiebarriere für das Eindringen in zylindrische Poren signifikant reduziert werden. Dieses Verhalten sollte unabhängig von eventuell gegen die Vesikeln stoßende Blutkörperchen sein.

Dynamische Prozesse mit mehreren verschiedenen charakteristischen Zeitskalen können jedoch nicht im Rahmen der eingangs gemachten Näherungen und den Gleichgewichtssimulationen beschrieben werden. Wie von Rovira-Bru et al. [246] hervorgehoben, hängen die (visko-)elastischen Eigenschaften von polymerbeschichteten Vesikeln stark von den Zeitskalen äußerer Einflüsse sowie vom Relaxationsverhalten der Lipiddoppelschicht und der Polymerschale ab. Es werden also keine Gleichgewichtszustände auf typischen Zeitskalen erreicht, was für die durchgeführten Simulationen angenommen wurde. In besonderem Maße wirkt sich dieses Verhalten auf die Biegesteifigkeit aus [246], mit der Konsequenz, daß verschiedene Standardmethoden zur Bestimmung der Biegesteifigkeit beschichteter Vesikeln auf Grund unterschiedlicher geometrischer Einschränkung an die Vesikelform (Mikropipette, freie Vesikeln bei Untersuchung der Formfluktuationen) um sich bis zu einer Größenordnung unterscheidende Ergebnisse liefern [246]. Dieser Effekt ist erheblich größer als bei unbeschichteten Vesikeln.



## Kapitel 8

# Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden die Eigenschaften fluider Vesikeln bei endlichen Temperaturen untersucht. Hierzu wurden Monte-Carlo-Simulationen einer triangulierten Vesikeloberfläche durchgeführt.

Die statischen Eigenschaften fluktuierender fluider Vesikeln wurden zum Teil mittels Freier-Energie-Profile analysiert. Da der Übergang zwischen verschiedenen Formen der Vesikel bereits eine große Anzahl von Monte-Carlo-Schritten in der Simulation benötigt, konnte nicht auf herkömmliche Histogrammverfahren zur Berechnung freier Energien zurückgegriffen werden. In diesem Zusammenhang wurde eine neuartige Histogrammmethode entwickelt, bei der zunächst die Ableitungen der freien Energie ermittelt werden. Aus diesen läßt sich in einem zweiten Schritt das Freie-Energie-Profil erhalten.

Die Form für eine freie fluide Vesikel mit frei veränderlichem Volumen, die das Konfigurationsenergie-Funktional minimiert, ist im Falle verschwindender Temperatur eine Kugel. Mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen unter Verwendung des obengenannten Verfahrens zur Berechnung freier Energien konnte gezeigt werden, daß sich dieses Resultat nicht auf endliche Temperaturen verallgemeinern läßt. Statt dessen überwiegen leicht prolata und oblate Vesikelformen, wobei die Wahrscheinlichkeit für prolata Formen etwas größer ist als für oblate Formen. Diese spontane Asphärizität tritt auch bei einem Modellsystem auf, das lediglich die niedrigsten Fluktuationsmoden berücksichtigt. Bei einem entsprechenden zweidimensionalen System läßt sich dieser entropische Effekt hingegen nicht beobachten. Bei dreidimensionalen Vesikeln kann die spontane Asphärizität durch osmotische Drücke, die im Inneren der Vesikel größer sind als in der umgebenden Flüssigkeit, reduziert oder sogar kompensiert werden.

Die mit der spontanen Asphärizität verbundene Barriere in der entsprechenden eingeschränkten freien Energie ist jedoch keine Barriere, die bei einem Übergang von prolata zu oblate Formen überwunden werden muß. Vielmehr treten beim Übergang biaxiale Formen auf, wobei sich das hier eingeführte Maß für die Asphärizität unstetig ändert.

In guter Näherung kann eine fluide Vesikel mit einem reduzierten Volumen, das nur wenig kleiner als eins ist, durch ein Rotationsellipsoid approximiert werden. Werden dessen elastische Eigenschaften mit dem Canham-Helfrich-Ausdruck für die Biegeenergie beschrieben, so läßt sich eine Abhängigkeit der dort verwendeten effektiven Biegesteifigkeit  $\kappa_{eff}$  von der mikroskopischen in den Simulationen verwendeten Biegesteifigkeit  $\kappa$  ermitteln. Für  $\kappa/T \geq 20$  ist diese durch

$$\kappa_{eff} = 1.1 \kappa - 2.2 T$$

gegeben.

Die in den Simulationen verwendeten lokalen Monte-Carlo-Schritte lassen sich als dynamischer Prozeß interpretieren. Dies ermöglicht die Abschätzung von Übergangszeiten zwischen oblate und prolata Formen. Bei Abwesenheit osmotisch aktiver Teilchen liegt

diese im Bereich von Millisekunden, bei einem durch osmotische Effekte konstanten Vesikelvolumen im Bereich von Sekunden.

Im Rahmen der Untersuchungen des Adhäsionsverhaltens fluider Vesikeln an planaren, homogenen Substraten konnte mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen gezeigt werden, daß die Eigenschaften der Kontaktfläche stark davon abhängen, ob die Adhäsion durch ein attraktives Potential oder durch den Einfluß der Schwerkraft bewirkt wird. Im Falle eines attraktiven Substrats sowie im Falle einer Massendichtedifferenz der Flüssigkeiten innerhalb und außerhalb der Vesikel ist der Abstand zwischen der Vesikel und dem Substrat homogen auf der Kontaktfläche. Wird die Vesikel bei Abwesenheit osmotisch aktiver Substanzen auf Grund einer Differenz der Massendichten der Membran und der umgebenden Flüssigkeit gegen das Substrat gedrückt, ist dies nicht der Fall. Insbesondere ergibt sich für den Abstand eines beliebigen Punkts der Kontaktfläche vom Substrat eine stark asymmetrische Verteilung.

Ferner wurde die Adhäsion fluider Vesikeln an chemisch strukturierten planaren Substraten untersucht. Bei der Adhäsion fluider Vesikeln mit frei veränderlichem Volumen an eine streifenförmige attraktive Domäne bilden sich ellipsoidale Formen, die mit wachsender Tiefe des Potentials in schlauchförmige Gebilde übergehen. Die Breite der Vesikel senkrecht zum Streifen in unmittelbarer Nähe zum Substrat wird in diesem Zusammenhang für kleine Biegesteifigkeiten geringer, während sie für große Biegesteifigkeiten zunimmt.

Bei der Adhäsion einer fluiden Vesikel geringer Biegesteifigkeit mit osmotisch vorgegebenem Volumen an eine kreisförmige attraktive Domäne ergibt sich stets eine Kugelkappengestalt. Die Größe der Kontaktfläche nimmt bei kleinen Domänenradien mit wachsendem reduzierten Volumen zu, während sie bei großen Domänenradien abnimmt. Im Falle größerer Biegesteifigkeiten ergibt sich bei der Adhäsion eine glatte Vesikeloberfläche, die keine Kugelkappengestalt besitzt.

Eine Untersuchung freier fluider Vesikeln, bei denen die osmotischen Bedingungen variiert wurden, zeigte ferner eine Zunahme der Oberflächenspannung mit abnehmender Biegesteifigkeit. Für große Biegesteifigkeiten konnte der Zusammenhang zwischen der Oberflächenspannung und den osmotischen Bedingungen mit dem Laplaceschen Gesetz beschrieben werden.

Für die Bestimmung der Biegesteifigkeit der Vesikelmembranen liefern die existierenden Verfahren stark voneinander abweichende Ergebnisse. In der vorliegenden Arbeit konnte mittels Monte-Carlo-Simulationen zur Bestimmung der Biegesteifigkeit anhand des Mikropipettenverfahrens von Evans gezeigt werden, daß dieses Verfahren die *a priori* für die Simulation vorgegebene Biegesteifigkeit im wesentlichen reproduzieren kann.

Im Hinblick auf medizinisch-pharmazeutische Anwendungen ist der Durchgang fluider Vesikeln durch enge Poren relevant. In Monte-Carlo-Simulationen konnte gezeigt werden, daß ein spontaner Transport der Vesikel durch ein Konzentrationsgefälle osmotisch aktiver Substanzen, das den physiologischen Bedingungen entspricht, induziert werden kann. Es konnten die hierfür notwendigen osmotischen Bedingungen sowie die charakteristischen Zeitskalen abgeschätzt werden. Im realen Experiment sind Eindringzeiten in eine enge Pore im Bereich weniger Minuten zu erwarten. Durch Hinzufügen einer zweiten Komponente mit positiver spontaner Krümmung zur Vesikelmembran läßt sich eine Absenkung bzw. ein Verschwinden einer Energiebarriere für den Eindringprozeß erreichen. Besitzt die zweite Komponente eine negative spontane Krümmung, ändert sich das Eindringverhalten der Vesikel nur unwesentlich gegenüber dem einer einkomponentigen.

Ferner konnte beobachtet werden, daß bei Vesikeln mit einer homogenen, positiven spontanen Krümmung Deformationen hin zu prolatischen Formen leichter erfolgen als bei Vesikeln ohne spontane Krümmung. Mit diesem Effekt ist eine Verringerung der Energiebarriere für das Eindringen in eine Pore verbunden, deren Radius nur wenig kleiner als der Vesikelradius ist.

## Ausblick

In den durchgeführten Simulationen durfte der Oberflächeninhalt der triangulierten Vesikel innerhalb eines kleinen Bereichs variieren. In diesem Zusammenhang ist die Durchführung von Simulationen mit einer exakt konstanten Fläche von Interesse. Das gleiche gilt für ein konstantes Volumen. Desweiteren wäre der Einfluß eines konstanten Integrals der mittleren Krümmung über die Vesikeloberfläche als dritte Zwangsbedingung zu untersuchen. Dies betrifft insbesondere Untersuchungen der Asphärizität freier fluider Vesikeln.

In den Betrachtungen zum Abziehverhalten adhärierter Vesikeln von attraktiven Substraten in den Abschnitten 6.2 und 7.1.3 wurde auf den Einfluß der Breite der attraktiven Potentiale Bezug genommen. Eine Bestimmung der Größe der in der Kontaktfläche vorhandenen intrinsischen Fläche sollte daher ferner Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

Bei adhärierten fluiden Vesikeln an kreisförmigen attraktiven Domänen fluktuiert der Vesikelschwerpunkt. Die resultierende Verteilung der Schwerpunktskoordinate liefert daher Aussagen über die Bindungsstärke der Vesikel. Deren Kenntnis ist insbesondere bei einer vertikalen Fixierung der Vesikel an einem Substrat von Interesse. In diesem Fall haben Auftriebseffekte wesentlichen Einfluß auf die Stabilität des Kontakts.

## Anhang A

# Mittlere Tetherlänge

Im folgenden soll eine Sphäre mit Radius  $R_0$  betrachtet werden, die durch eine Triangulierung mit  $N_e$  Vertices diskretisiert wird.

Auf Grund der Eulerschen Polyederformel und der Tatsache, daß jede der Flächen durch drei Kanten begrenzt wird, ergibt sich für die Anzahl  $N_f$  der Dreiecke in der Triangulierung

$$N_f = 2N_e - 4 \quad (\text{A.1})$$

und für die Anzahl  $N_k$  der Kanten

$$N_k = 3N_e - 6. \quad (\text{A.2})$$

Nimmt man die Dreiecke als ungefähr gleichseitig und gleich groß an, so gilt für die Gesamtfläche

$$A = 4\pi R_0^2 \simeq \frac{\sqrt{3}}{4} N_f L_0^2 \simeq \frac{\sqrt{3}}{2} N_e L_0^2, \quad (\text{A.3})$$

wobei  $L_0$  die Kantenlänge und damit die mittlere Tetherlänge ist. Für  $L_0$  ergibt sich schließlich folgender Ausdruck

$$L_0 \simeq 3.8 \frac{R_0}{\sqrt{N_e}}. \quad (\text{A.4})$$

## Anhang B

# Konvergenz des Schätzers für generalisierte Kräfte

In Abschnitt 4.5 wurde ein Schätzer für die Ermittlung verallgemeinerter Kräfte  $f(s)$  aus Histogrammen bezüglich  $s$  konstruiert. Hier soll nun gezeigt werden, daß dieser Schätzer selbstkonsistent ist. Das heißt, aus einem Histogramm für  $s$ , das aus einem gegebenen  $f(s)$  hervorgeht, soll der Wert  $f(s)$  reproduziert werden.

Vor dem eigentlichen Beweis sei hier zunächst eine Bemerkung hinsichtlich des tatsächlich eingesetzten Schätzers gemacht. In der numerischen Anwendung ist es notwendig,  $p_i$  in Gleichung (4.12) durch  $\frac{h_i+1}{n_{sample}}$  zu ersetzen, um einen wohldefinierten Wert  $a_{est}$  zu erhalten, falls ein  $h_i$  Null ist.

Der folgende Beweis zeigt, daß die starke Konsistenz des Schätzers unmittelbar aus dem Glivenko-Cantelli-Theorem [136, 247] folgt. Dieses Theorem liefert eine fast sichere Konvergenz der gemessenen empirischen Verteilungsfunktion von  $s$  gegen die tatsächliche. Selbiges gilt damit für die einzelnen Histogrammhöhen  $p_i$ , die fast sicher gegen die zugehörigen Werte  $p_i[a]$  der zugrunde liegenden Wahrscheinlichkeitsdichte  $p[a]$  konvergieren. Damit konvergiert auch  $\ln \frac{h_i+1}{n_{sample}}$  fast sicher gegen  $\ln p_i[a]$ . Selbiges gilt für die endliche Summe dieser Ausdrücke. Wendet man schließlich den Schätzer auf die Wahrscheinlichkeitsdichte  $p[a]$  an, so ergibt sich  $a$ , womit

$$\frac{3}{\Delta (N_{bins}^2 - 1)} \sum_{i=0}^{N_{bins}-1} \left[ \ln \frac{h_i + 1}{n_{sample}} (2j + 1 - N_{bins}) \right]$$

fast sicher gegen  $a$  konvergiert und damit die starke Konsistenz des Schätzers gezeigt ist.

## Anhang C

# Asphärizität im 3D *Crossed Dumbbells* Modell

In Abschnitt 5.4 wurde das dreidimensionale *Crossed Dumbbells* Modell eingeführt. Die Berechnung der Verteilungsfunktion  $P(d)$  für den Anisotropieparameter  $d$  in diesem Modell soll an dieser Stelle nachgereicht werden. Der Wert  $P(d_0)$  gibt die Wahrscheinlichkeit an, einen Wert  $d \leq d_0$  zu finden. Aus Symmetriegründen wird lediglich der Fall  $0 < a_1 \leq a_2 \leq a_3$  untersucht.

Sei zunächst der Fall  $a_3 - a_2 \geq a_2 - a_1$  betrachtet. Dies bedeutet

$$a_3 \geq 2a_2 - a_1 \geq a_2. \quad (\text{C.1})$$

Weiterhin ist der Integrationsbereich durch

$$d = \frac{2a_3 - a_1 - a_2}{2a_3 + a_1 + a_2} \leq d_0$$

und damit

$$a_3 \leq \frac{1 + d_0}{2(1 - d_0)}(a_1 + a_2) \quad (\text{C.2})$$

beschränkt. Da die Ungleichungen (C.1) und (C.2) gleichzeitig erfüllt sein müssen, ergibt sich

$$a_2 \geq a_1 \geq \frac{3 - 5d_0}{3 - d_0}a_2. \quad (\text{C.3})$$

Dies ist jedoch nur für  $d \leq 0$  möglich.

Für den umgekehrten Fall  $a_3 - a_2 \leq a_2 - a_1$  ergibt sich

$$0 < a_1 \leq 2a_2 - a_3 \leq a_2 \quad (\text{C.4})$$

und

$$a_3 \leq 2a_2. \quad (\text{C.5})$$

Weiterhin ist

$$d = \frac{2a_1 - a_2 - a_3}{2a_1 + a_2 + a_3} \leq d_0$$

und äquivalent

$$a_1 \leq \frac{1 + d_0}{2(1 - d_0)}(a_2 + a_3), \quad (\text{C.6})$$

so daß die obere Integrationsgrenze für  $a_1$  von  $d$  abhängt. Soll die Integrationsgrenze durch (C.4) gegeben sein, so folgt  $a_3 \leq \frac{3-5d_0}{3-d_0}a_2$ , was  $a_3 \leq a_2$  für positive  $d_0$  widerspricht. In diesem Fall ist der Integrationsbereich für beliebige positive  $a_2$  durch

$$a_2 \leq a_3 \leq 2a_2 \quad \text{und} \quad 0 \leq a_1 \leq 2a_2 - a_3 \quad (\text{C.7})$$

beschränkt. Für  $0 \leq d_0 \leq 0$  ergibt sich hingegen

$$\left| \begin{array}{ll} a_2 \leq a_3 \leq \frac{3-5d_0}{3-d_0} a_2 & \text{und } 0 \leq a_1 \leq \frac{1+d_0}{2(1-d_0)} (a_2 + a_3) \\ & \text{oder} \\ \frac{3-5d_0}{3-d_0} a_2 \leq a_3 \leq 2a_2 & \text{und } 0 \leq a_1 \leq 2a_2 - a_3 \end{array} \right|. \quad (\text{C.8})$$

Nach Bestimmung der Integrationsgrenzen für beliebige  $a_1, a_2, a_3$  mit  $0 < a_1 \leq a_2 \leq a_3$  kann nun die Verteilungsfunktion  $P(d)$  ermittelt werden. Für  $d \geq 0$  ergibt sich unter Verwendung von (C.3) und (C.7)

$$\begin{aligned} P(d) &= \tilde{p}_0 \int_{a_2=0}^{\infty} da_2 q(a_2) \times \\ &\quad \left\{ \int_{a_1=\frac{3-5d}{3-d} a_2}^{a_2} da_1 q(a_1) \int_{a_3=2a_1-a_1}^{\frac{1+d}{2(1-d)} (a_1+a_2)} da_3 q(a_3) \right. \\ &\quad \left. + \int_{a_3=a_2}^{2a_2} da_3 q(a_3) \int_{a_1=0}^{2a_2-a_3} da_1 q(a_1) \right\} \end{aligned} \quad (\text{C.9})$$

mit der Normierungskonstanten

$$\tilde{p}_0 = 6 \left( \int_0^{\infty} da q(a) \right)^{-3}. \quad (\text{C.10})$$

Wenn man annimmt, daß  $d$  klein ist im Vergleich zur Halbwertsbreite  $\lambda$  der Wahrscheinlichkeitsdichte  $q$ , so ergibt sich für die Ableitung der Verteilungsfunktion  $P(d)$ , das heißt der Wahrscheinlichkeitsdichte von  $d$

$$p(d) = P'(d) \approx \tilde{p}_0 \lambda q^3(1) \frac{8d(3-2d)}{(3-2d)^2(1-d)^2}. \quad (\text{C.11})$$

Im zweiten Fall mit  $d < 0$  erhält man gemäß (C.8)

$$\begin{aligned} P(d) &= \tilde{p}_0 \int_{a_2=0}^{\infty} da_2 q(a_2) \times \\ &\quad \left\{ \int_{a_3=a_2}^{\frac{3-5d}{3-d} a_2} da_3 q(a_3) \int_{a_1=0}^{\frac{1+d}{2(1-d)} (a_2+a_3)} da_1 q(a_1) \right. \\ &\quad \left. + \int_{a_3=\frac{3-5d}{3-d} a_2}^{2a_2} da_3 q(a_3) \int_{a_1=0}^{2a_2-a_3} da_1 q(a_1) \right\} \end{aligned} \quad (\text{C.12})$$

und mit derselben Approximation wie oben

$$p(d) = P'(d) \approx \tilde{p}_0 \lambda q^3(1) \frac{-8d(3-2d)}{(3-d)^2(1-d)^2}. \quad (\text{C.13})$$

Offensichtlich lassen sich beide Fälle mit einem gemeinsamen Ausdruck beschreiben

$$p(d) = P'(d) \approx 8\tilde{p}_0 \lambda q^3(1) \frac{|d|(3-2d)}{(3-d)^2(1-d)^2} \quad (\text{C.14})$$

bzw. mit  $p_0 = 8\tilde{p}_0 \lambda q^3(1)$  durch

$$p(d) \approx p_0 \frac{|d|(3-2d)}{(3-d)^2(1-d)^2}. \quad (\text{C.15})$$

## Anhang D

# Asphärizität ellipsoidaler Vesikelformen

In Abschnitt 5.6 wurde angenommen, daß sich für hinreichend große Biegesteifigkeiten  $\kappa$  und moderate Asphärizitäten  $d$  die Vesikeloberfläche durch Ortsvektoren

$$\mathbf{r}(\theta, \phi) = R_0 \begin{pmatrix} (1 + a_1) \cos \phi \sin \theta \\ (1 + a_2) \sin \phi \sin \theta \\ (1 + a_3) \cos \theta \end{pmatrix} \quad (\text{D.1})$$

mit den üblichen Kugelkoordinaten  $\theta$  und  $\phi$ ,  $0 \leq \theta \leq \pi$ ,  $0 \leq \phi \leq 2\pi$ , sowie betragsmäßig kleinen Parametern  $a_i$ ,  $i = 1, 2, 3$ , beschreiben läßt. Ist  $g(\theta, \phi)$  die Determinante des Metriktensors, so ergibt eine Entwicklung von  $\sqrt{g}$  bis zum quadratischen Glied folgende Ausdrücke für Oberfläche und Biegeenergie:

$$\frac{A^{(2)}}{A_0} = 1 + \frac{1}{15} (2a_1 + 2a_2 + 2a_3 + a_1^2 + a_2^2 + a_3^2 + 4a_1a_2 + 4a_1a_3 + 4a_2a_3) \quad (\text{D.2})$$

$$E_{el}^{(2)} = 8\pi\kappa + \frac{128\pi\kappa}{15} (a_1^2 + a_2^2 + a_3^2 - a_1a_2 - a_1a_3 - a_2a_3). \quad (\text{D.3})$$

Da nur Deformationen zugelassen sein sollen, bei denen die Oberfläche  $A^{(2)}$  konstant  $A_0$  ist, ergibt sich eine Hyperfläche im durch die  $a_i$  aufgespannten dreidimensionalen Raum. Hierbei handelt es sich um ein zweischaliges Rotationshyperboloid mit der Rotationsachse  $\mathbf{n} = \frac{1}{\sqrt{3}}(1, 1, 1)$  und dem Mittelpunkt  $\mathbf{r}_c = -\frac{\sqrt{3}}{5}$ . Durch die affine Transformation

$$\begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \\ b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & \frac{1}{\sqrt{2}} & -\frac{1}{\sqrt{2}} \\ \sqrt{\frac{2}{3}} & \frac{1}{\sqrt{6}} & -\frac{1}{\sqrt{6}} \\ -\frac{1}{\sqrt{3}} & \frac{1}{\sqrt{3}} & \frac{1}{\sqrt{3}} \end{pmatrix} \cdot \left( \begin{pmatrix} a_1 \\ a_2 \\ a_3 \end{pmatrix} - \mathbf{r}_c \right) \quad (\text{D.4})$$

werden die obengenannten Ausdrücke für die Oberfläche und die Biegeenergie in Summen von Quadraten der neuen Variablen  $b$ ,  $b_1$  und  $b_2$  überführt

$$\frac{A^{(2)}}{A_0} = 1 + \frac{1}{15} \left( -\frac{3}{5} + 5b^2 - (b_1^2 + b_2^2) \right) \quad (\text{D.5})$$

$$E_{el}^{(2)} = 8\pi\kappa \left( 1 + \frac{4}{5} (b_1^2 + b_2^2) \right). \quad (\text{D.6})$$

Die neuen Variablen  $b_1$  und  $b_2$  können folglich als unabhängige Freiheitsgrade aufgefaßt werden, und  $b$  ist so zu wählen, daß stets  $A^{(2)} = A_0$  gilt. Aus Symmetriegründen sollen  $b_1$  und  $b_2$  im folgenden mit Hilfe von Polarkoordinaten dargestellt werden

$$\begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \end{pmatrix} = r \begin{pmatrix} \cos \phi \\ \sin \phi \end{pmatrix}. \quad (\text{D.7})$$



## Auswertung der Zustandssumme

Zur Berechnung der Asphärizität  $d$  sind die Eigenwerte  $e_i$  des Trägheitstensors des Vesikelinneren zu berechnen. Diese haben unter den gemachten Annahmen folgendes Aussehen

$$e_1 = \alpha(a_1, a_2, a_3) \left( (1 + a_2)^2 + (1 + a_3)^2 \right) \quad (\text{D.8})$$

$$e_2 = \alpha(a_1, a_2, a_3) \left( (1 + a_1)^2 + (1 + a_3)^2 \right) \quad (\text{D.9})$$

$$e_3 = \alpha(a_1, a_2, a_3) \left( (1 + a_1)^2 + (1 + a_2)^2 \right), \quad (\text{D.10})$$

wobei  $\alpha$  eine Funktion ist, die nur von  $a_1$ ,  $a_2$  und  $a_3$  abhängt. Im resultierenden Ausdruck für die Asphärizität fällt  $\alpha$  jedoch heraus. Die Asphärizitäten sind in Abbildung D.1 veranschaulicht.

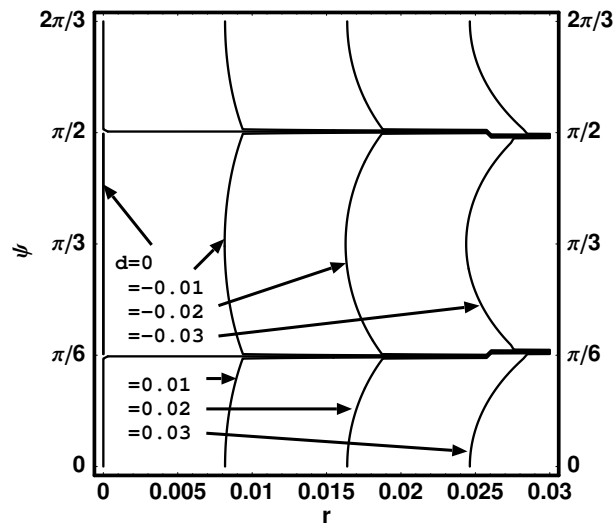


Abbildung D.1: Die Asphärizität  $d$  als Funktion von  $r$  und  $\psi$ . Die Funktion besitzt eine Periode  $\frac{2}{3}\pi$  bezüglich  $\psi$ .

Ohne Beschränkung der Allgemeinheit sei  $|e_2 - e_3| \leq |e_i - e_j|$  für alle  $i \neq j$  angenommen. Für kleine Werte von  $r$  und negative Asphärizitäten  $d$  ist dies im Intervall

$$\frac{5\pi}{6} + \frac{1}{2\sqrt{6}}r \leq \psi \leq \frac{7\pi}{6} - \frac{1}{2\sqrt{6}}r \quad (\text{D.11})$$

der Fall und für positive Asphärizitäten  $d$  im Intervall

$$-\frac{\pi}{6} - \frac{1}{2\sqrt{6}}r \leq \psi \leq \frac{\pi}{6} + \frac{1}{2\sqrt{6}}r. \quad (\text{D.12})$$

Innerhalb dieser Intervalle liefert die Taylor-Entwicklung der Asphärizität

$$d = \sqrt{\frac{3}{2}}r \cos \psi - \frac{r^2}{4} + O(r^3). \quad (\text{D.13})$$

Da bereits das quadratische Glied sehr klein ist, werden an dieser Stelle das zweite und alle weiteren Glieder der Taylor-Entwicklung vernachlässigt. Mit dem Ergebnis der linearen Approximation

$$d = \sqrt{\frac{3}{2}}r \cos \psi \quad (\text{D.14})$$

an den Intervallgrenzen (D.12) und (D.14) kann dort der Term  $\frac{r}{2\sqrt{6}}$  durch  $\Delta\psi_0 \approx \frac{d}{3\sqrt{3}}$  ersetzt werden. Dies liefert eine einheitliche Formel für die eingeschränkte Zustandssumme

$$Z(d) = \int \int db_1 db_2 \exp\left(-\frac{32\pi}{5} \frac{\kappa}{T} (b_1^2 + b_2^2)\right) \delta(d'(b_1, b_2) - d) \quad (\text{D.15})$$

$$= \int dr \int d\psi r \exp\left(-\frac{32\pi}{5} \frac{\kappa}{T} r^2\right) \delta(d'(b_1, b_2) - d) \quad (\text{D.16})$$

$$\approx 3 \left| \int_{-\frac{\pi}{6} - \Delta\psi_0}^{\frac{\pi}{6} + \Delta\psi_0} r(\psi) \exp\left(-\frac{32\pi}{5} \frac{\kappa}{T} r^2(\psi)\right) \sqrt{1 + r'(\psi)^2} d\psi \right| \quad (\text{D.17})$$

für positive und negative Asphärizitäten  $d$ . Der Faktor drei in der letzten Gleichung resultiert aus der speziellen Auswahl der Eigenwerte des Trägheitstensors. Diese bewirkt eine Periode  $\frac{2}{3}\pi$  bezüglich  $\psi$  in der Funktion  $d(r, \psi)$ .

## Anhang E

# Approximation der Vesikelform durch ein Rotationsellipsoid

Für moderate (und nicht zu kleine) Deformationen einer Vesikel mit freiem Volumen sei angenommen, daß ihre Form durch ein Rotationsellipsoid mit Hauptachsenlängen  $a$ , parallel zur Rotationsachse, und  $b$ , senkrecht zu dieser, beschrieben werden kann. Setzt man  $r = \frac{b}{a}$ , so ist

$$r(d) = \sqrt{\frac{1-d}{1+d}}, \quad (\text{E.1})$$

wobei  $d$  die in Gleichung (5.2) definierte Asphärizität der Vesikel ist. Ist weiterhin die Vesikeloberfläche konstant  $A = A_0$ , so gilt

$$\frac{a(d)}{R_0} = \begin{cases} 2^{3/4} \sqrt{\frac{\sqrt{d}\sqrt{1+d}}{\sqrt{1-d^2} \arcsin \sqrt{\frac{2d}{1+d}} - \sqrt{2}(d-1)\sqrt{\frac{d}{1+d}}}} & \text{für } d \neq 0 \\ 1 & \text{sonst} \end{cases} \quad (\text{E.2})$$

und für die Biegeenergie

$$E_{el}(d) = \begin{cases} \pi\kappa \left( \frac{14}{3} + \frac{4}{3} \frac{1-d}{1+d} + \frac{\sqrt{2}(1+d) \arcsin \sqrt{\frac{2d}{1+d}}}{\sqrt{d(1-d)}} \right) & \text{für } d \neq 0 \\ 8\pi\kappa & \text{sonst.} \end{cases} \quad (\text{E.3})$$

Letzterer Ausdruck läßt sich durch das quadratische Taylor-Polynom

$$E_{el}(d) = 8\pi\kappa \left( 1 + \frac{8}{15} d^2 \right) \quad (\text{E.4})$$

nähern.

## Anhang F

# Entwicklungskoeffizient $u_{2,0}$ für die Vesikelform

Sei im folgenden angenommen, daß sich die Vesikeloberfläche durch ein Ellipsoid mit Halbachsenlängen  $A_i$ ,  $i = 1, 2, 3$ , approximieren läßt. Der Trägheitstensor  $\mathcal{I}$  des Vesikelinneren hat dann in diagonalisierter Form folgendes Aussehen

$$\mathcal{I} = \frac{V}{5} \begin{pmatrix} A_2^2 + A_3^2 & 0 & 0 \\ 0 & A_1^2 + A_3^2 & 0 \\ 0 & 0 & A_1^2 + A_2^2 \end{pmatrix}. \quad (\text{F.1})$$

Setzt man das gemessene Vesikelvolumen gleich  $\frac{4\pi}{3}A_1A_2A_3$ , so lassen sich die Halbachsenlängen berechnen. Diese werden nachfolgend normiert, so daß  $V = \frac{4\pi}{3}A_1A_2A_3 = \frac{4}{3}\pi$  gilt. Die Oberfläche der Vesikel mit normiertem Volumen läßt sich dann durch die Gleichung

$$\mathbf{r}_H^t \cdot \begin{pmatrix} \frac{1}{A_1^2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{A_2^2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{A_3^2} \end{pmatrix} \cdot \mathbf{r}_H = 1 \quad (\text{F.2})$$

mit Ortsvektoren  $\mathbf{r}_H$  im Hauptachsensystem beschreiben. Diese gehen durch orthogonale Transformation  $\mathbf{O} = (a_{\mu\nu})$  in die Koordinaten  $\hat{\mathbf{r}}$  des Beobachtersystems mit Ursprung am Schwerpunkt des Vesikelvolumens über

$$\mathbf{O} \cdot \mathbf{r}_H = \hat{\mathbf{r}}. \quad (\text{F.3})$$

Mit der Einführung der üblichen Winkelkoordinaten  $\theta$  und  $\phi$  für Raumwinkel und

$$\hat{\mathbf{r}} = \hat{\mathbf{r}}(\theta, \phi) \begin{pmatrix} \cos \phi \sin \theta \\ \sin \phi \sin \theta \\ \cos \theta \end{pmatrix} \quad (\text{F.4})$$

ergibt sich

$$\hat{\mathbf{r}}(\theta, \phi) = \sqrt{\begin{pmatrix} \cos \phi \sin \theta \\ \sin \phi \sin \theta \\ \cos \theta \end{pmatrix}^t \cdot \mathbf{O} \cdot \begin{pmatrix} \frac{1}{A_1^2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{A_2^2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{A_3^2} \end{pmatrix} \cdot \mathbf{O}^t \cdot \begin{pmatrix} \cos \phi \sin \theta \\ \sin \phi \sin \theta \\ \cos \theta \end{pmatrix}} \quad (\text{F.5})$$

$$\approx 1 + \sum_{i=1}^3 \left\{ (A_i - 1) (a_{3i} \cos \theta + (a_{1i} \cos \phi + a_{2i} \sin \phi) \sin \theta)^2 \right\}. \quad (\text{F.6})$$

Das Skalarprodukt von  $\hat{r} - 1$  mit  $Y_{2,0}(\theta, \phi) = \frac{1}{4}\sqrt{\frac{5}{\pi}}(3\cos^2\theta - 1)$  auf der Einheitssphäre

$$u_{2,0} = \int_0^{2\pi} d\phi \int_0^\pi d\theta \sin\theta (\hat{r}(\theta, \phi) - 1) Y_{2,0}(\theta, \phi) \quad (\text{F.7})$$

liefert schließlich

$$u_{2,0} = -\frac{2}{3}\sqrt{\frac{\pi}{5}}\{A_1 + A_2 - 2A_3 + 3a_{31}(A_3 - A_1) + 3a_{32}(A_3 - A_2)\}, \quad (\text{F.8})$$

wobei  $a_{31}$  und  $a_{32}$  durch die Eigenvektoren des nichtdiagonalisierten Trägheitstensors des Vesikelinneren bekannt sind.

# Literaturverzeichnis

- [1] ALBERTS, B. ; BRAY, D. ; LEWIS, J. ; RAFF, M. ; ROBERTS, K. ; WATSON, J. D.: *Molecular Biology of the Cell*. 2. New York, London : Garland, 1989
- [2] LIPOWSKY, R. (Hrsg.) ; SACKMANN, E. (Hrsg.): *Handbook of Biological Physics*. Bd. 1: *Structure and Dynamics of Membranes*. Amsterdam : Elsevier, 1995
- [3] LIPOWSKY, R.: Vesicles and Biomembranes. In: TRIGG, G. L. (Hrsg.): *Encyclopedia of Applied Physics* Bd. 23. Weinheim : Wiley-VCH, 1998, S. 199–222
- [4] BELL, G. I. ; DEMBO, M. ; BONGRAND, P.: Competition Between Nonspecific Repulsion and Specific Bonding. In: *Biophys. J.* 45 (1984), S. 1051–1064
- [5] BONGRAND, P.: Ligand-receptor interactions. In: *Rep. Prog. Phys.* 62 (1999), S. 921–968
- [6] SIMSON, R. ; SACKMANN, E.: Mimicking Physics of Cell Adhesion. In: *Physical Chemistry of Biological Interfaces*. New York, Basel : Dekker, 2000, S. 401–430
- [7] FREED, L. E. ; VUNJAK-NOVAKOVIC, G.: Culture of organized cell communities. In: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 33 (1998), S. 15–30
- [8] LASIC, D. D. ; PEARLMAN, R.: Liposomes and Lipidic Particles in Gene Therapy. In: *Vesicles*. New York, Basel : Dekker, 1996, S. 477–489
- [9] NIKOLELIS, D. P. ; HIANIK, T. ; KRULL, U. J.: Biosensors Based on Thin Lipid Films and Liposomes. In: *Elektroanal.* 11 (1998), Nr. 1, S. 7–15
- [10] FROMHERZ, P. ; KIESSLING, V. ; KOTTIG, K. ; ZECK, G.: Membrane transistor with giant lipid vesicle touching a silicon ship. In: *Appl. Phys. A* 69 (1999), S. 571–576
- [11] CHIU, D. T. ; WILSON, C. F. ; RYTTSÉN, F. ; STRÖMBERG, A. ; FARRA, C. ; KARLSSON, A. ; NORDHOLM, S. ; GAGGAR, A. ; MODI, B. P. ; MOSCHO, A. ; GARZA-LÓPEZ, R. A. ; OWAR, O. ; ZARE, R. N.: Chemical Transformations in Individual Ultrasmall Biomimetic Containers. In: *Science* 283 (1999), S. 1892–1895
- [12] EVANS, E. ; BOWMAN, H. ; LEUNG, A. ; NEEDHAM, D. ; TIRRELL, D.: Biomembrane Templates for Nanoscale Conduits and Networks. In: *Science* 273 (1996), S. 933–935
- [13] KARLSSON, A. ; KARLSSON, R. ; KARLSSON, M. ; CANS, A.-S. ; STRÖMBERG, A. ; RYTTSÉN, F. ; OWAR, O.: Network of nanotubes and containers. In: *Nature* 409 (2001), S. 150–152
- [14] KARLSSON, M. ; SCOTT, K. ; DAVIDSON, M. ; CANS, A.-S. ; LINDERHOLM, P. ; CHIU, D. ; OWAR, O.: Formation of geometrically complex lipid nanotube-vesicle networks of higher-order topologies. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99 (2002), Nr. 18, S. 11573–11578
- [15] SOTT, K. ; KARLSSON, M. ; PIHL, J. ; HURTIG, J. ; LOBOVKINA, T. ; ORWAR, O.: Micropipet Writing Technique for Production of Two-Dimensional Lipid Bilayer Nanotube-Vesicle Networks on Functionalized and Patterned Surfaces. In: *Langmuir* 19 (2003), S. 3904–3910
- [16] KARLSSON, R. ; KARLSSON, A. ; ORWAR, O.: Formation and Transport of Nanotube-Integrated Vesicles in a Lipid Bilayer Network. In: *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), S. 11201–11207
- [17] HURTIG, J. ; KARLSSON, M. ; ORWAR, O.: Topographic SU-8 Substrates for Immobilization of Three-Dimensional Nanotube-Vesicle Networks. In: *Langmuir* 20 (2004), S. 5637–5641

- [18] LOBOVKINA, T. ; DOMMERSNES, P. ; JOANNY, J.-F. ; BASSEREAU, P. ; KARLSSON, M. ; ORWAR, O.: Mechanical tweezer action by self-tightening knots in surfactant nanotubes. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101 (2004), Nr. 21, S. 7949–7953
- [19] WALDE, P.: Enzymatic reactions in liposomes. In: *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 1 (1996), S. 638–644
- [20] WALDE, P. ; ICHIKAWA, S.: Enzymes inside lipid vesicles: preparation, reactivity and applications. In: *Biomolecular Engineering* 18 (2001), S. 143–177
- [21] PAPAHDJOPOULOS, D. ; WATKINS, J. C.: Phospholipid Model Membranes: II. Permeability Properties of Hydrated Liquid Crystals. In: *Biochim. Biophys. Acta* 135 (1967), S. 639–652
- [22] SZOKA, JR., F. ; PAPAHDJOPOULOS, D.: Comparative Properties and Methods of Preparation of Lipid Vesicles (Liposomes). In: *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9 (1980), S. 467–508
- [23] BANGHAM, A. D. ; HORNE, R. W.: Negative Staining of Phospholipids and their Structural Modification by Surface-active Agents as observed in the Electron Microscope. In: *J. Mol. Biol.* 8 (1964), S. 660–668
- [24] BANGHAM, A. D. ; STANDISH, M. M. ; WATKINS, J. C.: Diffusion of Univalent Ions across Lamellae of Swollen Phospholipids. In: *J. Mol. Biol.* 13 (1965), S. 238–252
- [25] ANGELOVA, M. I. ; DIMITROV, D. S.: Liposome Electroformation. In: *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 81 (1986), S. 303–311
- [26] DIAT, O. ; ROUX, D.: Preparation of monodisperse multilayer vesicles of controlled size and high encapsulation ratio. In: *J. Phys. II France* 3 (1993), S. 9–14
- [27] DIAT, O. ; ROUX, D. ; NALLET, F.: Effect of shear on a lyotropic lamellar phase. In: *J. Phys. II France* 3 (1993), S. 1427–1452
- [28] OLSEN, F. ; HUNT, C. A. ; SZOKA, F. C. ; VAIL, W. J. ; PAPAHDJOPOULOS, D.: Preparation of liposomes of defined size distribution by extrusion through polycarbonate membranes. In: *Biochim. Biophys. Acta* 557 (1979), S. 9–23
- [29] MAYER, L. D. ; HOPE, M. J. ; CULLIS, P. R.: Vesicles of variable sizes produced by a rapid extrusion procedure. In: *Biochim. Biophys. Acta* 858 (1986), S. 161–168
- [30] HUNTER, D. G. ; FRISKEN, B. J.: Effect of Extrusion Pressure and Lipid Properties on the Size and Polydispersity of Lipid Vesicles. In: *Biophys. J.* 74 (1998), S. 2996–3002
- [31] FRISKEN, B. J. ; ASMANN, C. ; PATTY, P. J.: Studies of Vesicle Extrusion. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 928–933
- [32] PAUTOT, S. ; FRISKEN, B. J. ; WEITZ, D. A.: Engineering Asymmetric Vesicles. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 (2003), Nr. 19, S. 10718–10721
- [33] NINHAM, B. W. ; EVANS, D. F. ; WEI, G. J.: The Curious World of Hydroxide Surfactants. Spontaneous Vesicles and Anomalous Micelles. In: *J. Phys. Chem* 87 (1983), S. 5020–5025
- [34] TALMON, Y. ; EVANS, D. F. ; NINHAM, B. W.: Spontaneous Vesicles Formed from Hydroxide Surfactants: Evidence from Electron Microscopy. In: *Science* 221 (1983), S. 1047–1048
- [35] BRADY, J. E. ; EVANS, D. F. ; KACHAR, B. ; NINHAM, B. W.: Spontaneous Vesicles. In: *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984), S. 4279–4280
- [36] DEULING, H. J. ; HELFRICH, W.: The curvature elasticity of fluid membranes: a catalogue of vesicle shapes. In: *J. Phys. France* 37 (1976), Nr. 11, S. 1335–1345
- [37] SACKMANN, E. ; DUWE, H.-P. ; ENGELHARDT, H.: Membrane bending elasticity and its role for shape fluctuations and shape transformations of cells and vesicles. In: *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 81 (1986), S. 281–290
- [38] BERNDL, K. ; KÄS, J. ; LIPOWSKY, R. ; SACKMANN, E. ; SEIFERT, U.: Shape Transformations of Giant Vesicles: Extreme Sensitivity to Bilayer Asymmetry. In: *Europhys. Lett.* 13 (1990), Nr. 7, S. 659–664

- [39] KÄS, J. ; SACKMANN, E.: Shape transitions and shape stability of giant phospholipid vesicles in pure water induced by area-to-volume changes. In: *Biophys. J.* 60 (1991), S. 825–844
- [40] DÖBEREINER, H.-G. ; EVANS, E. ; KRAUS, M. ; SEIFERT, U. ; WORTIS, M.: Mapping vesicle shapes into the phase diagram: A comparison of experiment and theory. In: *Phys. Rev. E* 55 (1997), Nr. 4, S. 4458–4474
- [41] FOURCADE, B. ; MUTZ, M. ; BENSIMON, D.: Experimental and Theoretical Study of Toroidal Vesicles. In: *Phys. Rev. Lett.* 68 (1992), Nr. 16, S. 2551–2554
- [42] MICHALET, X. ; BENSIMON, D. ; FOURCADE, B.: Fluctuating Vesicles of Nonspherical Topology. In: *Phys. Rev. Lett.* 72 (1994), Nr. 1, S. 168–171
- [43] MICHALET, X. ; BENSIMON, D.: Observation of Stable Shapes and Conformal Diffusion in Genus 2 Vesicles. In: *Science* 269 (1995), S. 666–668
- [44] MICHALET, X. ; BENSIMON, D.: Vesicles of Toroidal Topology: Observed Morphology and Shape Transformations. In: *J. Phys. II France* 5 (1995), S. 263–287
- [45] JÜLICHER, F. ; SEIFERT, U. ; LIPOWSKY, R.: Conformal Degeneracy and Conformal Diffusion of Vesicles. In: *Phys. Rev. Lett.* 71 (1993), Nr. 3, S. 452–455
- [46] ZHANG, L. ; EISENBERG, A.: Multiple Morphologies of Crew-Cut Aggregates of Polystyrene-*b*-poly(acrylic acid) Block Copolymers. In: *Science* 268 (1995), S. 1728–1731
- [47] DISCHER, B. M. ; WON, Y.-Y. ; EGE, D. S. ; LEE, J. C.-M. ; BATES, F. S. ; DISCHER, D. E. ; HAMMER, D. A.: Polymersomes: Tough Vesicles Made from Diblock Copolymers. In: *Science* 284 (1999), S. 1143–1146
- [48] LEE, J. C.-M. ; BERMUDEZ, H. ; DISCHER, B. M. ; SHEEHAN, M. A. ; WON, Y.-Y. ; BATES, F. S. ; DISCHER, D. E.: Performance, Stability, and In Vitro Performance of Vesicles Made with Diblock Copolymers. In: *Biotechnol. Bioeng.* 73 (2001), S. 135–145
- [49] DIMOVA, R. ; SEIFERT, U. ; POULIGNY, B. ; FÖRSTER, S. ; DÖBEREINER, H.-G.: Hyperviscous diblock copolymer vesicles. In: *Eur. Phys. J. E* 7 (2002), S. 241–250
- [50] KUKULA, H. ; SCHLAAD, H. ; ANTONIETTI, M. ; FÖRSTER, S.: The Formation of Polymer Vesicles or “Peptosomes“ by Polybutadiene-block-poly(L-glutamate)s in Dilute Aqueous Solution. In: *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002), Nr. 8, S. 1658–1663
- [51] ANTONIETTI, M. ; FÖRSTER, S.: Vesicles and Liposomes: A Self-Assembly Principle Beyond Lipids. In: *Adv. Mater.* 15 (2003), Nr. 16, S. 1323–1333
- [52] ALVAREZ-ROMÁN, R. ; NAIK, A. ; KALIA, Y. N. ; FESSI, H. ; GUY, R. H.: Visualization of skin penetration using confocal laser scanning microscopy. In: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50 (2004), S. 301–316
- [53] STÖSSEL, W.: *Fourieroptik*. 1. Berlin, Heidelberg : Springer, 1993
- [54] CANHAM, P. B.: The Minimum Energy of Bending as a Possible Explanation of the Biconcave Shape of the Human Blood Cell. In: *J. Theor. Biol.* 26 (1970), S. 61–81
- [55] HELFRICH, W.: Elastic Properties of Lipid Bilayers: Theory and Possible Experiments. In: *Z. Naturforsch.* 28c (1973), S. 693–703
- [56] HOMAN, R. ; POWNALL, H. J.: Transbilayer diffusion of phospholipids: dependence on head-group structure and acyl chain length. In: *Biochim. Biophys. Acta* 938 (1988), Nr. 2, S. 155–166
- [57] EVANS, E.: Bending resistance and chemically induced moments in membrane bilayers. In: *Biophys. J.* 14 (1974), S. 923–931
- [58] SVETINA, S. ; OTTOVA-LEITMANNOVÁ, A. ; GLASER, R.: Membrane Bending Energy in Relation to Bilayer Couples Concept of Red Blood Cell Shape Transformations. In: *J. theoret. Biol.* 94 (1982), S. 13–23
- [59] SVETINA, S. ; ŽEKŠ, B.: Bilayer couple hypothesis of red cell shape transformations and osmotic hemolysis. In: *Biochim. Biophys. Acta* 11/12 (1983), S. S86–S90



- [60] SEIFERT, U. ; MIAO, L. ; DÖBEREINER, H.-G. ; WORTIS, M.: Budding Transition for Bilayer Fluid Vesicles with Area-Difference Elasticity. 66 (1992), S. 93–96
- [61] WIESE, W. ; HARBICH, W. ; HELFRICH, W.: Budding of lipid bilayer vesicles and flat membranes. In: *J. Phys.: Condens. Matter* 4 (1992), S. 1647–1657
- [62] BOŽIČ, B. ; SVETINA, S. ; ŽEKŠ, B. ; WAUGH, R. E.: Role of lamellar membrane structure in tether formation from bilayer vesicles. In: *Biophys. J.* 61 (1992), S. 963–973
- [63] MIAO, L. ; SEIFERT, U. ; WORTIS, M. ; DÖBEREINER, H.-G.: Budding transitions of lipid-bilayer vesicles: The effect of area-difference elasticity. In: *Phys. Rev. E* 49 (1994), Nr. 6, S. 5389–5407
- [64] SEIFERT, U. ; BERNDL, K. ; LIPOWSKY, R.: Shape transformations of vesicles: Phase diagram for spontaneous-curvature and bilayer-coupling models. In: *Phys. Rev. A* 44 (1991), Nr. 2, S. 1182–1202
- [65] JARIĆ, M. ; SEIFERT, U. ; WINTZ, W. ; WORTIS, M.: Vesicular instabilities: The prolate-to-oblate transition and other shape instabilities of fluid bilayer membranes. In: *Phys. Rev. E* 52 (1995), Nr. 6, S. 6623–6634
- [66] JANKE, W. ; KLEINERT, H.: Fluctuation pressure of membrane between walls. In: *Phys. Lett. A* 117 (1986), Nr. 7, S. 353–357
- [67] JANKE, W. ; KLEINERT, H.: Fluctuation pressure of a stack of membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 58 (1987), Nr. 2, S. 144–147
- [68] LIPOWSKY, R. ; ZIELINSKA, B.: Binding and Unbinding of Lipid Membranes: A Monte Carlo Study. In: *Phys. Rev. Lett.* 62 (1989), Nr. 13, S. 1572–1575
- [69] GOMPPER, G. ; KROLL, D. M.: Steric Interactions in Multimembrane Systems: a Monte Carlo Study. In: *Europhys. Lett.* 9 (1989), Nr. 1, S. 59–64
- [70] COOK-RÖDER, J. ; LIPOWSKY, R.: Adhesion and Unbinding for Bunches of Fluid Membranes. In: *Europhys. Lett.* 18 (1992), Nr. 5, S. 433–438
- [71] NETZ, R. R. ; LIPOWSKY, R.: Unbinding of symmetric and asymmetric stacks of membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 71 (1993), Nr. 21, S. 3596–3599
- [72] NETZ, R. R. ; LIPOWSKY, R.: Stacks of Fluid Membranes under Pressure and Tension. In: *Europhys. Lett.* 29 (1995), Nr. 4, S. 345–350
- [73] WEIKL, T. R. ; NETZ, R. R. ; LIPOWSKY, R.: Unbinding transitions and phase separation of multicomponent membranes. In: *Phys. Rev. E* 62 (2000), Nr. 1, S. R45–R48
- [74] KANTOR, Y. ; KARDAR, M. ; NELSON, D. R.: Statistical Mechanics of Tethered Surfaces. In: *Phys. Rev. Lett.* 57 (1986), Nr. 7, S. 791–794
- [75] KANTOR, Y. ; NELSON, D. R.: Crumpling Transition in Polymerized Membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 58 (1987), Nr. 26, S. 2774–2777
- [76] KANTOR, Y. ; KARDAR, M. ; NELSON, D. R.: Tethered surfaces: Statistics and dynamics. In: *Phys. Rev. A* 35 (1987), Nr. 7, S. 3056–3071
- [77] LEIBLER, S. ; SINGH, R. R. P. ; FISHER, M. E.: Thermodynamic Behavior of Two-Dimensional Vesicles. In: *Phys. Rev. Lett.* 59 (1987), Nr. 18, S. 1989–1992
- [78] HO, J.-S. ; BAUMGÄRTNER, A.: Simulations of fluid self-avoiding membranes. In: *Europhys. Lett.* 12 (1990), Nr. 4, S. 295–300
- [79] BAUMGÄRTNER, A. ; HO, J.-S.: Crumpling of fluid vesicles. In: *Phys. Rev. A* 41 (1990), Nr. 10, S. 5747–5750
- [80] KROLL, D. M. ; GOMPPER, G.: The Conformation of Fluid Membranes: Monte Carlo Simulations. In: *Science* 255 (1992), S. 968–971
- [81] GOMPPER, G. ; KROLL, D. M.: Random Surface Discretizations and the Renormalization of the Bending Rigidity. In: *J. Phys. I France* 6 (1996), S. 1305–1320

- [82] GOMPPER, G. ; KROLL, D. M.: Shape of inflated vesicles. In: *Phys. Rev. A* 46 (1992), Nr. 12, S. 7466–7473
- [83] GOMPPER, G. ; KROLL, D. M.: Phase diagram and scaling behavior of fluid vesicles. In: *Phys. Rev. E* 51 (1995), Nr. 1, S. 514–525
- [84] GOMPPER, G. ; KROLL, D. M.: Membranes with Fluctuating Topology: Monte Carlo Simulations. In: *Phys. Rev. Lett.* 81 (1998), Nr. 11, S. 2284–2287
- [85] DAVID, F.: Geometry and Field Theory of Random Surfaces and Membranes. In: NELSON, D. (Hrsg.) ; PIRAN, T. (Hrsg.) ; WEINBERG, S. (Hrsg.): *Statistical Mechanics of Membranes and Surfaces* Bd. 5: Proceedings of the 5th Jerusalem Winter School for Theoretical Physics. Singapore : World Scientific, 1989, S. 157–223
- [86] SEIFERT, U. ; LANGER, S. A.: Viscous Modes of Fluid Bilayer Membranes. In: *Europhys. Lett.* 23 (1993), Nr. 1, S. 71–76
- [87] SEIFERT, U.: Configurations of fluid membranes and vesicle. In: *Adv. Phys.* 46 (1997), Nr. 1, S. 13–137
- [88] LANDAU, L. D. ; LIFSCHITZ, E. M.: *Lehrbuch der Theoretischen Physik*. Bd. 5: Statistische Physik – Teil I. 8. Berlin : Akademie-Verlag, 1987
- [89] REICHL, L. E.: *A Modern Course in Statistical Physics*. 2. New York : Wiley, 1998
- [90] ALLEN, M. P. ; TILDESLEY, D. J.: *Computer Simulation of Liquids*. 1. Oxford : Oxford University Press, 1989
- [91] EVANS, E. ; NEEDHAM, D.: Physical Properties of Surfactant Bilayer Membranes: Thermal Transitions, Elasticity, Rigidity, Cohesion, and Colloidal Interactions. In: *J. Phys. Chem.* 91 (1987), S. 4219–4228
- [92] ALBERSDÖRFER, A. ; FEDER, T. ; SACKMANN, E.: Adhesion-Induced Domain Formation by Interplay of Long-Range Repulsion and Short-Range Attraction Force: A Model Membrane Study. In: *Biophys. J.* 73 (1997), S. 245–257
- [93] SEIFERT, U. ; LIPOWSKY, R.: Adhesion of vesicles. In: *Phys. Rev. A* 42 (1990), Nr. 8, S. 4768–4771
- [94] SEIFERT, U.: Adhesion of vesicles in two dimensions. In: *Phys. Rev. A* 43 (1991), Nr. 12, S. 6803–6814
- [95] SEIFERT, U. ; LIPOWSKY, R.: Adhesion and unbinding of vesicles. In: BEYENS, D. (Hrsg.) ; BOCCARA, N. (Hrsg.) ; FORGACS, G. (Hrsg.): *Dynamical Phenomena at Surfaces, Interfaces, and Membranes*. Commack : Nova Science Publishers, 1993, S. 295–304
- [96] KRAUS, M. ; SEIFERT, U. ; LIPOWSKY, R.: Gravity-Induced Shape Transformations of Vesicles. In: *Europhys. Lett.* 32 (1995), Nr. 5, S. 431–436
- [97] LEIBLER, S.: Curvature instability in membranes. In: *J. Physique* 47 (1986), S. 507–516
- [98] LIPOWSKY, R.: Budding of membranes induced by intramembrane domains. In: *J. Phys. II France* 2 (1992), S. 1825–1840
- [99] JÜLICHER, F. ; LIPOWSKY, R.: Domain-Induced Budding of Vesicles. In: *Phys. Rev. Lett.* 70 (1993), Nr. 19, S. 2964–2967
- [100] MARKIN, V. S.: Lateral Organization of Membranes and Cell Shapes. In: *Biophys. J.* 36 (1981), S. 1–19
- [101] SEIFERT, U.: Curvature-Induced Lateral Phase Segregation in Two-Component Vesicles. In: *Phys. Rev. Lett.* 70 (1993), Nr. 9, S. 1335–1338
- [102] KRALJ-IGLIČ, V. ; SVETINA, S. ; ŽEKŠ, B.: Shapes of bilayer vesicles with membrane embedded molecules. In: *Eur. Biophys. J.* 24 (1996), S. 311–321
- [103] KRALJ-IGLIČ, V. ; HEINRICH, V. ; SVETINA, S. ; ŽEKŠ, B.: Free energy of closed membrane with anisotropic inclusions. In: *Eur. Phys. J. B* 10 (1999), S. 5–8

- [104] PELITI, L. ; LEIBLER, S.: Effects of Thermal Fluctuations on Systems with Small Surface Tension. In: *Phys. Rev. Lett.* 54 (1985), Nr. 15, S. 1690–1693
- [105] KLEINERT, H.: Thermal softening of curvature elasticity in membranes. In: *Phys. Lett.* 114 (1986), S. 263–268
- [106] EVANS, E. ; RAWICZ, W.: Entropy-Driven Tension and Bending Elasticity in Condensed-Fluid Membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 64 (1990), Nr. 17, S. 2094–2097
- [107] EVANS, E. A.: Minimum energy analysis of membrane deformation applied to pipet aspiration and surface adhesion of red blood cells. In: *Biophys. J.* 30 (1980), S. 265–284
- [108] KWOK, R. ; EVANS, E.: Thermoelasticity of large lecithin bilayer vesicles. In: *Biophys. J.* 35 (1981), S. 637–652
- [109] EVANS, E. ; RAWICZ, W.: Elasticity of „Fuzzy“ Biomembranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 79 (1997), Nr. 12, S. 2379–2382
- [110] BO, L. ; WAUGH, R. E.: Determination of bilayer membrane bending stiffness by tether formation from giant, thin-walled vesicles. In: *Biophys. J.* 55 (1989), S. 509–517
- [111] HEINRICH, V. ; BOŽIČ, B. ; SVETINA, S. ; ŽEKŠ, B.: Vesicle Deformation by an Axial Load: From Elongated Shapes to Tethered Vesicles. In: *Biophys. J.* 76 (1999), S. 2056–2071
- [112] SCHNEIDER, M. B. ; JENKINS, J. T. ; WEBB, W. W.: Thermal fluctuations of large quasi-spherical biomolecular phospholipid vesicles. In: *J. Phys. France* 45 (1984), S. 1457–1472
- [113] ENGELHARDT, H. ; DUWE, H. P. ; SACKMANN, E.: Bilayer bending elasticity measured by Fourier analysis of thermally excited surface undulations of flaccid vesicles. In: *J. Phys. Lett.* 46 (1985), S. L395–L400
- [114] DUWE, H. P. ; KÄS, J. ; SACKMANN, E.: Bending elastic moduli of lipid bilayers: modulation by solutes. In: *J. Phys. France* 51 (1990), S. 945–962
- [115] DÖBEREINER, H.-G. ; GOMPPER, G. ; HALUSKA, C. K. ; KROLL, D. M. ; PETROV, P. G. ; RISKE, K. A.: Advanced Flicker Spectroscopy of Fluid Membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 91 (2003), Nr. 4, S. 048301
- [116] NEWMAN, M. E. J. ; BARKEMA, G. T.: *Monte Carlo Methods in Statistical Physics.* 1. Oxford : Oxford University Press, 1999
- [117] LANDAU, D. P. ; BINDER, K.: *Monte Carlo Simulations in Statistical Physics.* 1. Cambridge : Cambridge university Press, 2000
- [118] FRENKEL, D. ; SMIT, B.: *Understanding Molecular Simulation.* 2. San Diego : Academic Press, 2002
- [119] METROPOLIS, N. ; ROSENBLUTH, A. W. ; ROSENBLUTH, M. N. ; TELLER, A. H. ; TELLER, E.: Equation of state calculations by fast computing machines. In: *J. Chem. Phys.* 21 (1953), S. 1087–1092
- [120] KRAUS, M.: *Adhäsion und Dynamik von Vesikeln in äußeren Feldern.* Potsdam, Universität Potsdam, Diss., 1996
- [121] KUMAR, P. B. S. ; GOMPPER, G. ; LIPOWSKY, R.: Budding Dynamics of Multicomponent Membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 86 (2001), Nr. 17, S. 3911–3914
- [122] KRAMERS, H. A.: Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions. In: *Physica (Utrecht)* 7 (1940), Nr. 4, S. 284–304
- [123] HÄNGGI, P. ; TALKNER, P. ; BORKOVEC, M.: Reaction-rate theory: fifty years after Kramers. In: *Rev. Mod. Phys.* 62 (1990), Nr. 2, S. 251–342
- [124] KAMPEN, N. G. van: *Stochastic Processes in Physics and Chemistry.* 1. Amsterdam : North-Holland – Elsevier, 1992
- [125] FRENKEL, D.: Statistical mechanics for computer simulators. In: BINDER, K. (Hrsg.) ; CICCOTTI, G. (Hrsg.): *Monte Carlo and Molecular Dynamics of Condensed Matter Systems* Bd. 49. Bologna : SIF, 1996, S. 3–42

- [126] BENNETT, C. H.: Efficient Estimation of Free Energy Differences from Monte Carlo Data. In: *J. Comput. Phys.* 22 (1976), Nr. 2, S. 245–268
- [127] TORRIE, G. M. ; VALLEAU, J. P.: Nonphysical Sampling Distributions in Monte Carlo Free-Energy Estimation: Umbrella Sampling. In: *J. Comput. Phys.* 23 (1977), S. 187–199
- [128] DUIJNEVELDT, J. S. van ; FRENKEL, D.: Computer simulation study of free energy barriers in crystal nucleation. In: *J. Chem. Phys.* 96 (1992), Nr. 6, S. 4655–4668
- [129] FERREBERG, A. M. ; SWENDSEN, R. H.: New Monte Carlo Technique for Studying Phase Transitions. In: *Phys. Rev. Lett.* 61 (1988), Nr. 23, S. 2635–2638
- [130] FERREBERG, A. M. ; SWENDSEN, R. H.: Optimized Monte Carlo Data Analysis. In: *Phys. Rev. Lett.* 63 (1989), Nr. 12, S. 1195–1198
- [131] FERREBERG, A. M. ; LANDAU, D. P. ; SWENDSEN, R. H.: Statistical errors in histogram reweighting. In: *Phys. Rev. E* 51 (1995), Nr. 5, S. 5092–5100
- [132] BARTELS, C. ; KARPLUS, M.: Multidimensional Adaptive Umbrella Sampling: Applications to Main Chain and Side Chain Peptide Conformations. In: *J. Comput. Chem.* 18 (1997), Nr. 12, S. 1450–1462
- [133] EFRON, B.: Computers and the Theory of Statistics: Thinking the Unthinkable. In: *SIAM Rev.* 21 (1979), Nr. 4, S. 460–480
- [134] EFRON, B. ; TIBSHIRANI, R.: Bootstrap Methods for Standard Errors, Confidence Intervals, and Other Measures of Statistical Accuracy. In: *Statistical Science* 1 (1986), Nr. 1, S. 54–77
- [135] EFRON, B.: More Efficient Bootstrap Computations. In: *Journal of the American Statistical Society* 85 (1990), Nr. 409
- [136] PESTMAN, W. R.: *Mathematical Statistics – An Introduction*. 1. Berlin, New York : W. de Gruyter, 1998
- [137] SEDGEWICK, R.: *Algorithmen*. 2. München : Pearson, 2002
- [138] ŠOLC, K.: Shape of a Random Flight. In: *J. Chem. Phys.* 55 (1971), Nr. 1, S. 335–344
- [139] RUDNICK, J. ; GASPARI, G.: The asphericity of random walks. In: *J. Phys. A: Math. Gen.* 19 (1986), Nr. 4, S. L191–L193
- [140] DIEHL, H. W. ; EISENRIEGLER, E.: Universal shape ratios for open and closed random walks: exact results for all  $d$ . In: *J. Phys. A* 22 (1989), S. L87–L91
- [141] BISHOP, M. ; SALTIEL, C. J.: Polymer shapes in two, four, and five dimensions. In: *J. Chem. Phys.* 88 (1988), Nr. 6, S. 3976–3980
- [142] NOGUCHI, H. ; GOMPPER, G.: Fluid Vesicles with Viscous Membranes in Shear Flow. In: *Phys. Rev. Lett.* 93 (2004), S. 258102
- [143] DÖBEREINER, H.-G. ; SEIFERT, U.: Giant vesicles at the prolate-oblate transition: A macroscopic bistable system. In: *Europhys. Lett.* 36 (1996), Nr. 5, S. 325–330
- [144] ERMAK, D. L. ; MCCAMMON, J. A.: Brownian dynamics with hydrodynamic interactions. In: *J. Chem. Phys.* 69 (1978), Nr. 4, S. 1352–1360
- [145] KIKUCHI, K. ; YOSHIDA, M. ; MAEKAWA, T. ; WATANABE, H.: Metropolis Monte Carlo method as a numerical technique to solve the Fokker-Planck equation. In: *Chem. Phys. Lett.* 185 (1991), Nr. 3,4, S. 335–338
- [146] KIKUCHI, K. ; YOSHIDA, M. ; MAEKAWA, T. ; WATANABE, H.: Metropolis Monte Carlo method for Brownian dynamics simulation generalized to include hydrodynamic interactions. In: *Chem. Phys. Lett.* 196 (1992), Nr. 1,2, S. 57–61
- [147] HEYES, D. M. ; BRAŃKA, A. C.: Monte Carlo as Brownian dynamics. In: *Mol. Phys.* 94 (1998), Nr. 3, S. 447–454
- [148] MILNER, S. T. ; SAFRAN, S. A.: Dynamical fluctuations of droplet microemulsions and vesicles. In: *Phys. Rev. A* 36 (1987), Nr. 9, S. 4371–4379

- [149] SEIFERT, U.: Self-Consistent Theory of Bound Vesicles. In: *Phys. Rev. Lett.* 74 (1995), Nr. 25, S. 5060–5063
- [150] LIPOWSKY, R. ; LEIBLER, S.: Unbinding Transitions of Interacting Membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 56 (1986), Nr. 23, S. 2541–2544
- [151] LIPOWSKY, R.: The conformation of membranes. In: *Nature* 349 (1991), S. 475–481
- [152] LIPOWSKY, R. ; SEIFERT, U.: Adhesion of Vesicles and Membranes. In: *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 202 (1991), S. 17–25
- [153] LIPOWSKY, R. ; SEIFERT, U.: Adhesion of Membranes: A Theoretical Perspective. In: *Langmuir* 7 (1991), Nr. 9, S. 1867–1873
- [154] GRUHN, T. ; LIPOWSKY, R.: Temperature dependence of vesicle adhesion. In: *Phys. Rev. E* 71 (2005), S. 011903
- [155] CURTIS, A. S. G.: The mechanism of adhesion of cells to glass. A study by interference reflection microscopy. In: *J. Cell Biol.* 20 (1964), S. 199–215
- [156] PLOEM, J. S.: Reflection-contrast microscopy as a tool for investigation of the attachment of living cells to a glass surface. In: FURTH, R. V. (Hrsg.): *Mononuclear Phagocytes in Immunity, Infection and Pathology*. Oxford : Blackwell, 1975, S. 405–421
- [157] ZILKER, A. ; ENGELHARDT, H. ; SACKMANN, E.: Dynamic reflection interference contrast (RIC-) microscopy: a new method to study surface excitations of cells and to measure membrane bending elastic moduli. In: *J. Phys. France* 48 (1987), S. 2138–2151
- [158] VERSCHUEREN, H.: Interference Reflection Microscopy In Cell Biology: Methodology and Applications. In: *J. Cell Sci.* 75 (1985), S. 279–301
- [159] RÄDLER, J. ; SACKMANN, E.: Imaging optical thickness and separation distances of phospholipid vesicles at solid surfaces. In: *J. Phys. II France* 3 (1993), S. 727–748
- [160] RÄDLER, J. O. ; FEDER, T. J. ; STREY, H. H. ; SACKMANN, E.: Fluctuation analysis of tension-controlled undulation forces between giant vesicles and solid substrates. In: *Phys. Rev. E* 51 (1995), Nr. 5, S. 4526–4536
- [161] MARX, S. ; SCHILLING, J. ; SACKMANN, E. ; BRUINSMA, R.: Helfrich Repulsion and Dynamical Phase Separation of Multicomponent Lipid Bilayers. In: *Phys. Rev. Lett.* 88 (2002), Nr. 13, S. 138102
- [162] GUTTENBERG, Z. ; BAUSCH, A. R. ; HU, B. ; BRUINSMA, R. ; MORODER, L. ; SACKMANN, E.: Measuring Ligand-Receptor Unbinding Forces with Magnetic Beads: Molecular Leverage. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 8984–8993
- [163] SMITH, A.-S. ; SACKMANN, E. ; SEIFERT, U.: Effects of a pulling force on the shape of a bound vesicle. In: *Europhys. Lett.* 64 (2003), Nr. 2, S. 281–287
- [164] SMITH, A.-S. ; SACKMANN, E. ; SEIFERT, U.: Pulling Tethers from Adhered Vesicles. In: *Phys. Rev. Lett.* 92 (2004), Nr. 20, S. 208101
- [165] LENZ, P. ; LIPOWSKY, R.: Morphological Transitions of Wetting Layers on Structured Surfaces. In: *Phys. Rev. Lett.* 80 (1998), Nr. 9, S. 1920–1923
- [166] GAU, H. ; HERMINGHAUS, S. ; LENZ, P. ; LIPOWSKY, R.: Liquid Morphologies on Structured Surfaces: From Microchannels to Microchips. In: *Science* 283 (1999), S. 46–49
- [167] LIPOWSKY, R.: Morphological wetting transitions at chemically structured surfaces. In: *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 6 (2001), S. 40–48
- [168] BRINKMANN, M. ; LIPOWSKY, R.: Wetting morphologies on substrates with striped surface domains. In: *J. Appl. Phys.* 92 (2002), Nr. 8, S. 4296–4306
- [169] SEEMANN, R. ; BRINKMANN, M. ; KRAMER, E. J. ; LANGE, F. F. ; LIPOWSKY, R.: Wetting morphologies at microstructured surfaces. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102 (2005), Nr. 6, S. 1848–1852

- [170] BERNARD, A.-L. ; GUEDEAU-BOUDEVILLE, M.-A. ; SANDRE, O. ; PALACIN, S. ; MEGLIO, J.-M. di ; JULLIEN, L.: Permeation through Lipid Bilayers by Adhesion of Giant Vesicles on Decorated Surfaces. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 6801–6808
- [171] WEIKL, T. ; LIPOWSKY, R.: Local adhesion of membranes to striped surface domains. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 9338–9346
- [172] LIPOWSKY, R. ; BRINKMANN, M. ; DIMOVA, R. ; FRANKE, T. ; KIERFELD, J. ; ZHANG, X.: Droplets, bubbles, and vesicles at chemically structured surfaces. In: *J. Phys.: Condens. Matter* 17 (2005), S. S537–S558
- [173] SEIFERT, U.: The concept of effective tension for fluctuating vesicles. In: *Z. Phys. B* 97 (1995), S. 299–309
- [174] TAUPIN, C. ; DVOLAITSKY, M. ; SAUTEREY, C.: Osmotic Pressure Induced Pores in Phospholipid Vesicles. In: *Biochemistry* 14 (1975), Nr. 21, S. 4771–4775
- [175] ZHDANOV, V. P. ; KASEMO, B.: Comments on Rupture of Adsorbed Vesicles. In: *Langmuir* 17 (2001), S. 3518–3521
- [176] ZHELEV, D. V. ; NEEDHAM, D. ; HOCHMUTH, R. M.: A Novel Micropipet Method for Measuring the Bending Modulus of Vesicle Membranes. In: *Biophys. J.* 67 (1994), S. 720–727
- [177] OLBRICH, K. ; RAWICZ, W. ; NEEDHAM, D. ; EVANS, E.: Water Permeability and Mechanical Strength of Polyunsaturated Lipid Bilayers. In: *Biophys. J.* 79 (2000), S. 321–327
- [178] NEEDHAM, D. ; NUNN, R. S.: Elastic deformation and failure of lipid bilayer membranes containing cholesterol. In: *Biophys. J.* 58 (1990), S. 997–1009
- [179] EVANS, E. ; HEINRICH, V. ; LUDWIG, F. ; RAWICZ, W.: Dynamic Tension Spectroscopy and Strength of Biomaterials. In: *Biophys. J.* 85 (2003), S. 2342–2350
- [180] EVANS, E. ; HEINRICH, V.: Dynamic strength of fluid membranes. In: *C. R. Physique* 4 (2003), S. 265–274
- [181] EVANS, E. ; RITCHIE, K. ; MERKEL, R.: Sensitive Force Technique to Probe Molecular Adhesion and Structural Linkages at Biological Interfaces. In: *Biophys. J.* 68 (1995), S. 2580–2587
- [182] EVANS, E. ; RITCHIE, K.: Dynamic Strength of Molecular Adhesion Bonds. In: *Biophys. J.* 72 (1997), S. 1541–1555
- [183] EVANS, E.: Energy landscapes of biomolecular adhesion and receptor anchoring at interfaces explored with dynamic force spectroscopy. In: *Faraday Discuss.* 111 (1998), S. 1–16
- [184] MERKEL, R. ; NASSOY, P. ; LEUNG, A. ; RITCHIE, K. ; EVANS, E.: Energy landscapes of receptor-ligand bonds explored with dynamic force spectroscopy. In: *Nature* 397 (1999), S. 50–53
- [185] MÉLÉARD, P. ; GERBEAUD, C. ; BARDUSCO, P. ; JEANDAINÉ, N. ; MITOV, M. D. ; FERNANDEZ-PUENTE, L.: Mechanical properties of model membranes studied from shape transformations of giant vesicles. In: *Biochimie* 80 (1998), Nr. 5-6, S. 401–413
- [186] HELFRICH, W. ; SERVUSS, R.-M.: Undulations, Steric Interaction and Cohesion of Fluid Membranes. In: *Il Nuovo Cimento* 3D (1984), Nr. 1, S. 137–151
- [187] HENRIKSEN, J. R. ; IPSEN, J. H.: Measurement of membrane elasticity by micro-pipet aspiration. In: *Eur. Phys. J. E* 14 (2004), S. 149–167
- [188] LIPOWSKY, R.: Generic Interactions of Flexible Membranes. In: LIPOWSKY, R. (Hrsg.) ; SACKMANN, E. (Hrsg.): *Handbook of Biological Physics*. Amsterdam : Elsevier, 1995, S. 521–642
- [189] BROCHARD-WYART, F. ; GENNES, P.-G. de: Unbinding of adhesive vesicles. In: *C. R. Physique* 4 (2003), S. 281–287

- [190] MEZEI, M. M. ; GULASEKHARAM, V.: Liposomes – a selective drug delivery system for the topical route of administration. In: *Life Sci.* 26 (1980), S. 1473–1477
- [191] PRAUSNITZ, M. R. ; MITRAGOTRI, S. ; LANGER, R.: Current status and future potential of transdermal drug delivery. In: *Nat. Rev. Drug Discov.* 3 (2004), Nr. 2, S. 115–124
- [192] BARRY, B. W.: Breaching the skin's barrier to drugs. In: *Nat. Biotechnol.* 22 (2004), Nr. 2, S. 165–167
- [193] POTTS, R. O. ; GUY, R. H.: Predicting Skin Permeability. In: *Pharm. Res.* 9 (1992), Nr. 5, S. 663–669
- [194] POTTS, R. O. ; GUY, R. H.: A Predictive Algorithm for Skin Permeability: The Effects of Molecular Size and Hydrogen Bond Activity. In: *Pharm. Res.* 12 (1995), Nr. 11, S. 1628–1633
- [195] CEVC, G.: Lipid vesicles and other colloids as drug carriers on the skin. In: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 56 (2004), S. 675–711
- [196] CEVC, G. ; BLUME, G.: Lipid vesicles penetrate into intact skin owing to the transdermal osmotic gradients and hydration forces. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1104 (1992), S. 226–232
- [197] CEVC, G.: Transfersomes, Liposomes and Other Lipid Suspensions on the Skin: Permeation Enhancement, Vesicle Penetration, and Transdermal Drug Delivery. In: *Crit. Rev. Drug Carrier Syst.* 13 (1996), Nr. 3&4, S. 257–388
- [198] HÄFNER, D.: *Untersuchungen zu Wechselwirkungen zwischen flexiblen kationischen Lipidvesikeln und DNS sowie in vitro und in vivo Eigenschaften der daraus hergestellten Komplexe.* München, Ludwig-Maximilians-Universität München, Diss., 2002
- [199] LASCH, J. ; LAUB, R. ; WOHLRAB, W.: How deep do intact liposomes penetrate into human skin? In: *J. Control. Release* 18 (1991), S. 55–58
- [200] PLESSIS, J. du ; RAMACHANDRAN, C. ; WEINER, N. ; MÜLLER, D. G.: The influence of particle size of liposomes on the deposition of drug into skin. In: *Int. J. Pharm.* 103 (1994), S. 277–282
- [201] KUIJK-MEUWISSEN, M. E. M. J. ; JUNGINGER, H. E. ; BOUWSTRA, J. A.: interactions between liposomes and human skin in vitro, a confocal laser scanning microscopy study. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1371 (1997), S. 31–39
- [202] BETZ, G. ; NOWBAKHT, P. ; IMBODEN, R. ; IMANIDIS, G.: Heparin penetration into and permeation through human skin from aqueous and liposomal formulations in vitro. In: *Int. J. Pharm.* 228 (2001), S. 147–159
- [203] VERMA, D. D. ; VERMA, S. ; BLUME, G. ; FAHR, A.: Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. In: *Int. J. Pharm.* 258 (2003), S. 141–151
- [204] GOMPPER, G. ; KROLL, D. M.: Driven transport of fluid vesicles through narrow pores. In: *Phys. Rev. E* 52 (1995), Nr. 4, S. 4198–4208
- [205] TORDEUX, C. ; FOURNIER, J.-B.: Extravasation of adhering vesicles. In: *Europhys. Lett.* 60 (2002), Nr. 6, S. 875–881
- [206] FETTIPLACE, R. ; HAYDON, D. A.: Water Permeability of Lipid Membranes. In: *Physiol. Rev.* 60 (1980), Nr. 2, S. 510–550
- [207] FINKELSTEIN, A.: *Water Movement Through Lipid Bilayers, Pores, and Plasma Membranes.* New York : Wiley, 1987
- [208] NEEDHAM, D. ; ZHELEV, D. V.: The Mechanochemistry of Lipid Vesicles Examined by Micropipet Manipulation Technique. In: ROSOFF, M. (Hrsg.): *Vesicles* Bd. 62. New York : Dekker, 1996, S. 373–444
- [209] YE, R. ; VERKMAN, A. S.: Simultaneous Optical Measurement of Osmotic and Diffusional Water Permeability in Cells and Liposomes. In: *Biochemistry* 28 (1989), S. 824–829
- [210] GRIMMETT, G. R. ; STIRZAKER, D. R.: *Probability and Random Processes.* 2. Oxford, New York : Oxford University Press, 1992

- [211] CEVC, G.: Material Transport Across Permeability Barriers by Means of Lipid Vesicles. In: LIPOWSKY, R. (Hrsg.) ; SACKMANN, E. (Hrsg.): *Handbook of Biological Physics IA*. Amsterdam : Elsevier, 1995, S. 465–490
- [212] WARREN, B. A.: The Ultrastructure of the Microcirculation at the Advancing Edge of Walker 256 Carcinoma. In: *Microvasc. Res.* 2 (1970), S. 443–453
- [213] HIRANO, A. ; MALSUI, T.: Vascular structures in brain tumors. In: *Hum. Pathol.* 6 (1975), S. 611–621
- [214] JAIN, R. K.: Transport of molecules across tumor vasculature. In: *Cancer Metast. Rev.* 6 (1987), S. 559–593
- [215] NOMURA, T. ; KOREEDA, N. ; YAMASHITA, F. ; TAKAHURA, Y. ; HASHIDA, M.: Effect of Particle Size and Charge on the Disposition of Lipid Carriers After Intratumoral Injection into Tissue-isolated Tumors. In: *Pharm. Res.* 15 (1998), Nr. 1, S. 128–132
- [216] NAGAYASU, A. ; UCHIYAMA, K. ; KIWADA, H.: The size of liposomes: a factor which affects their targeting efficiency to tumors and therapeutic activity of liposomal antitumor drugs. In: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 40 (1999), S. 75–87
- [217] JAIN, R. K.: Delivery of molecular and cellular medicine to solid tumors. In: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 46 (2001), S. 149–168
- [218] NGUYEN-NGOC, T. ; VRIGNAUD, P. ; ROBERT, J.: Cellular pharmacokinetics of doxorubicin in cultured mouse sarcoma cells originating from autochthonous tumors. In: *Oncology* 41 (1984), Nr. 1, S. 55–60
- [219] MORJANI, H. ; MILLOT, J.-M. ; BELHOSSINE, R. ; SEBILLE, S. ; MANFAIT, M.: Anthracycline subcellular distribution in human leukemic cells by microspectrofluorometry: factors contributing to drug-induced cell death and reversal of multidrug resistance. In: *Leukemia* 11 (1997), S. 1170–1179
- [220] EL-KAREH, A. W. ; SECOMB, T. W.: A Mathematical Model for Comparison of Bolus Injection, Continuous Infusion, and Liposomal Delivery of Doxorubicin to Tumor Cells. In: *Neoplasia* 2 (2000), Nr. 4, S. 325–338
- [221] GABER, M. H. ; WU, N. Z. ; S. K. HUANG, K. H. ; DEWHIRST, M. W. ; PAPAHDJOPOULOS, D.: Thermosensitive Liposomes: Extravasation and Release of Contents in Tumor Microvascular Networks. In: *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 36 (1996), Nr. 5, S. 1177–1187
- [222] ALLEN, T. M. ; CHONN, A.: Large unilamellar liposomes with low uptake by the reticuloendothelial system. In: *FEBS Lett.* 223 (1987), S. 42–46
- [223] GABIZON, A. ; PAPAHDJOPOULOS, D.: Liposome formulations with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumors. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85 (1988), S. 6949–6953
- [224] PAPAHDJOPOULOS, D. ; ALLEN, T. M. ; GABIZON, A. ; MAYHEW, E. ; MATTHAY, K. ; HUANG, S. K. ; LEE, K.-D. ; WOODLE, M. C. ; LASIC, D. D. ; REDEMANN, C. ; MARTIN, F. J.: Sterically stabilized liposomes: Improvements in pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88 (1991), S. 11460–11464
- [225] MILNER, S. T. ; WITTEN, T. A.: Bending moduli of polymeric surfactant interfaces. In: *J. Phys. France* 49 (1988), S. 1951–1962
- [226] HRISTOVA, K. ; NEEDHAM, D.: The Influence of Polymer-Grafted Lipids on the Physical Properties of Lipid Bilayers: A Theoretical Study. In: *J. Colloid. Interf. Sci.* 168 (1994), S. 302–314
- [227] HRISTOVA, K. ; NEEDHAM, D.: Physical Properties of Polymer-Grafted Bilayers. In: LASIC, D. (Hrsg.) ; MARTIN, F. (Hrsg.): *Stealth Liposomes*. Boca Raton : CRC Press, 1995, S. 35–49
- [228] REX, S. ; ZUCKERMANN, M. J. ; LAFLEUR, M. ; SILVIUS, J. R.: Experimental and Monte Carlo Simulation Studies of the Thermodynamics of Polyethyleneglycol Chains Grafted to Lipid Bilayers. In: *Biophys. J.* 75 (1998), S. 2900–2914



- [229] BARENHOLZ, Y.: Liposome application: problems and prospects. In: *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 6 (2001), S. 66–77
- [230] LIPOWSKY, R.: Bending of Membranes by Anchored Polymers. In: *Europhys. Lett.* 30 (1995), Nr. 4, S. 197–202
- [231] HIERGEIST, C. ; LIPOWSKY, R.: Elastic Properties of Polymer-Decorated Membranes. In: *J. Phys. II France* 6 (1996), S. 1465–1481
- [232] WU, N. Z. ; DA, D. ; RUDOLL, T. L. ; NEEDHAM, D. ; WHORTON, A. R. ; DEWHIRST, M. W.: Increased Microvascular Permeability Contributes to Preferential Accumulation of Stealth Liposomes in Tumor Tissue. In: *Cancer Res.* 53 (1993), S. 3765–3770
- [233] YUAN, F. ; LEUNIG, M. ; HUANG, S. K. ; BERK, D. A. ; PAPAHDJOPOULOS, D. ; JAIN, R. K.: Microvascular Permeability and Interstitial Penetration of Sterically Stabilized (Stealth) Liposomes in a Human Tumor Xenograft. In: *Cancer Res.* 54 (1994), S. 3352–3356
- [234] YUAN, F. ; DELLIAN, M. ; FUKUMURA, D. ; LEUNIG, M. ; BERK, D. A. ; TORCHILIN, V. P. ; JAIN, R. K.: Vascular Permeability in a Human Tumor Xenograft: Molecular Size Dependence and Cutoff Size. In: *Cancer Res.* 55 (1995), S. 3752–3756
- [235] BAKKER-WOUDENBERG, I. A. J. M. ; LOKERSE, A. F. ; KATE, M. T. ; STORM, G.: Enhanced localization of liposomes with prolonged blood circulation time in infected lung tissue. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1138 (1992), S. 318–326
- [236] HOBBS, S. K. ; MONSKY, W. L. ; YUAN, F. ; ROBERTS, W. G. ; GRIFFITH, L. ; TORCHILIN, V. P. ; JAIN, R. K.: Regulation of transport pathways in tumor vessels: Role of tumor type and microenvironment. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95 (1998), S. 4607–4612
- [237] HASHIZUME, H. ; BALUK, P. ; MORIKAWA, S. ; MCLEAN, J. W. ; THURSTON, G. ; ROBERGE, S. ; JAIN, R. K. ; MCDONALD, D. M.: Openings between Defective Endothelial Cells Explain Tumor Vessel Leakiness. In: *Am. J. Pathol.* 156 (2000), S. 1363–1380
- [238] BAXTER, L. T. ; JAIN, R. K.: Transport of Fluid and Macromolecules in Tumors I. Role of Interstitial Pressure and Convection. In: *Microvasc. Res.* 37 (1989), S. 77–104
- [239] HELDIN, C.-H. ; RUBIN, K. ; PIETRAS, K. ; ÖSTMAN, A.: High Interstitial Fluid Pressure – an Obstacle in Cancer Therapy. In: *Nat. Rev. Cancer* 4 (2004), S. 806–813
- [240] WISSE, E. ; ZANGER, R. B. D. ; CHARELS, K. ; SMISSEN, P. van d. ; MCCUSKEY, R. S.: The Liver Sieve: Considerations Concerning the Structure and Function of Endothelial Fenestrae, the Sinusoidal Wall and the Space of Disse. In: *Hepatology* 5 (1985), Nr. 4, S. 683–692
- [241] FUNG, Y. C.: *Biomechanics: Circulation.* 2. New York : Springer, 1997
- [242] POZRIKIDIS, C.: Numerical Simulation of the Flow-Induced Deformation of Red Blood Cells. In: *Ann. Biomed. Eng.* 31 (2003), S. 1194–1205
- [243] SECOMB, T. W.: Mechanics of red blood cells and blood flow in narrow tubes. In: POZRIKIDIS, C. (Hrsg.): *Modeling and simulation of capsules and biological cells.* Boca Raton : Chapman & Hall, 2003, S. 163–196
- [244] MARSH, D.: Elastic Constants of Polymer-Grafted Lipid Membranes. In: *Biophys. J.* 81 (2001), S. 2154–2162
- [245] LINKE, G. T. ; LIPOWSKY, R. ; GRUHN, T.: Free Fluid Vesicles are not Exactly Spherical. In: *Phys. Rev. E* (2005), S. accepted
- [246] ROVIRA-BRU, M. ; THOMPSON, D. H. ; SZLEIFER, I.: Size and Structure of Spontaneously Forming Liposomes in Lipid/PEG-Liquid Mixtures. In: *Biophys. J.* 83 (2002), S. 2419–2439
- [247] KALLENBERG, O.: *Foundations of Modern Probability.* 1. New York, Berlin, Heidelberg : Springer, 1997

Für die Anfertigung der vorliegenden Arbeit wurde folgende Software verwendet

- für die Simulationen: selbstgeschriebener C++-Quelltext, mit dem Intel-C++-Compiler kompiliert
- für die Erzeugung der Grafiken: Gnuplot, Mathematica™, Geomview und POV-Ray
- und zur Anfertigung dieses Dokuments: L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X.

Teile dieser Arbeit wurden in folgender Publikation veröffentlicht:

G. T. Linke, R. Lipowsky, T. Gruhn: Free Fluid Vesicles are not Exactly Spherical, bei Physical Review E zur Publikation angenommen

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Reinhard Lipowsky danke für die Vergabe des Themas dieser Arbeit in Verbindung mit der Möglichkeit, in einer Arbeitsgruppe zu arbeiten, in der interessante biophysikalische Fragestellungen sowohl theoretisch als auch experimentell untersucht werden, sowie für viele hilfreiche Diskussionen und Anregungen. Thomas Gruhn bin ich für die engagierte Betreuung der Arbeit zu Dank verpflichtet. Er hatte stets ein offenes Ohr für nur grob umrissene Ideen, aus denen sich schließlich in vielen Diskussionen die einzelnen Kapitel der vorliegenden Arbeit entwickelten.

Mit Jan Kierfeld, Chris Haluska, Ilka Bischofs und Erwin Gutleiderer führte ich viele fruchtbare Diskussionen über Vesikeln. Weiterhin möchte ich der gesamten Theorie-Abteilung für die angenehme Arbeitsatmosphäre danken.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, ohne deren permanente Unterstützung diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.