

Interdisziplinäre Mathematik
Herausgegeben von H. Schuster

Andreas Deutsch (Hrsg.)

Muster des Lebendigen

Faszination ihrer Entstehung
und Simulation

Mit zahlreichen Zeichnungen und Fotos
sowie einem Farbteil



Inhalt

Vorwort	V
<i>Kapitel 1</i>	
Muster, Modelle, Simulationen	
Neue Wege zum Verständnis von Strukturbildung in der Natur	
<i>Andreas Deutsch</i>	1
<i>Kapitel 2</i>	
Selbstorganisation aus Prinzip	
In Bienenkörben entstehen komplexe Honig- und Pollenmuster	
<i>Scott Camazine</i>	39
<i>Kapitel 3</i>	
Harmonie der Proportionen	
Der Goldene Schnitt in der Blattstellung höherer Pflanzen	
<i>Peter H. Richter und Holger Dullin</i>	55
<i>Kapitel 4</i>	
Die Natur schlägt Wellen	
Spiralwellen organisieren die Entwicklung sozialer Amöben	
<i>Florian Siegert und Oliver Steinbock</i>	71
<i>Kapitel 5</i>	
Das Sein bestimmt das Gestaltsein	
Wachstumsbedingungen entscheiden über Sporenmuster eines Schimmelpilzes	
<i>Andreas Deutsch</i>	91
<i>Kapitel 6</i>	
Ordnung in Kolonien	
Bakterien schließen sich zu bizarren Formationen zusammen	
<i>Eshel Ben-Jacob, Ofer Shochet und Adam Tenenbaum</i>	109

<i>Kapitel 7</i>	
Hutwunder der Meere	
Entstehung und Regeneration der Gestalt einer Riesenalge <i>Brian C. Goodwin und Christian Brière</i>	127
<i>Kapitel 8</i>	
Zellen organisieren sich selbst	
Wachstum und Formbildung einzelliger Pflanzenstrukturen <i>Pierre Pelcé, Bruno Denet und Jiong Sun</i>	143
<i>Kapitel 9</i>	
Das Wandern ist der Zellen Lust	
Bewegung von Pigmentzellen führt zur Musterung von Salamanderlarven <i>Anna Grahn, Lars Sundén, Lennart Olsson, Andreas Deutsch und Jan Löffberg</i>	161
<i>Kapitel 10</i>	
Symmetrie und Topologie	
Die Struktur von Riesenmolekülen, supramolekularen Clustern und Kristallen <i>Andreas Dress, Daniel Huson und Achim Müller</i>	183
<i>Kapitel 11</i>	
Einblick in physikalische Welten	
Über die Vielfalt und Dynamik diffusionsbedingter Muster- bildung <i>Eshel Ben-Jacob, Ofer Shochet und Raz Kupferman</i>	203
<i>Kapitel 12</i>	
Chemie der Musterbildung	
Runge-Bilder, Liesegang-Ringe und Belousov-Zhabotinsky- Spiralen <i>Stefan C. Müller</i>	227
<i>Kapitel 13</i>	
Wenn das Turing wüßte	
Die Entdeckung von Turingmustern in der CIMA-Reaktion <i>Qi Ouyang und Harry L. Swinney</i>	247

Inhalt	XV
Experimente zur Musterbildung	265
Glossar	269
Über die Autoren	283
Abbildungsnachweis	287
Index	289

Kapitel 4

Die Natur schlägt Wellen

Spiralwellen organisieren die Entwicklung sozialer Amöben

Florian Siegert und Oliver Steinbock

Lebenswichtig für Organismen ist ihre Fähigkeit, Informationen über die Außenwelt zu empfangen und zu verarbeiten. Dies gilt für den ganzen Organismus wie auch für jede einzelne Zelle in einem vielzelligen Verband. Während der Entwicklung, also der Morphogenese, müssen Zellen vielfältige Informationen austauschen, die den Aufbau der entstehenden Gewebe und die Funktion der einzelnen Zellen festlegen. Hierbei ist es notwendig, daß die Signale sowohl in der zeitlichen Abfolge als auch in der räumlichen Verteilung aufeinander abgestimmt sind. Im fertigen Organismus schließlich müssen Zellen miteinander kommunizieren, um ein koordiniertes Verhalten sicherzustellen. Benachbarte Zellen kommunizieren mittels spezieller Verbindungskanäle, die das Cytoplasma verschiedener Zellen miteinander verbinden, oder über in der Zelloberfläche verankerte Moleküle, die durch spezifische Rezeptoren erkannt werden. Zellen oder Zellgruppen, die weit voneinander entfernt sind, kommunizieren über Hormone, die mit dem Blutstrom und durch Diffusion an ihren Zielort gelangen. Diese Signalmoleküle werden von vielen Zellen produziert und ausgeschieden und in den Zielzellen von spezifischen extra- oder intrazellulären Rezeptoren erkannt. Die Bindung des Signalmoleküls an den Rezeptor löst dann die entsprechende Antwort in der stimulierten Zelle aus. Da Hormone beim Transport über große Entfernungen stark verdünnt werden, müssen sie schon bei äußerst geringen Konzentrationen wirksam sein.

Schleimpilze als Modellsystem

Ein Kommunikationssystem vom hormonellen Typ liegt bei *Dictyostelium discoideum* vor [1]. Es dient hier dazu, das Verhalten Hunderttausender solitär lebender Amöben zu koordinieren. *Dictyostelium* wird dem Reich der Pilze und dort der Abteilung Schleimpilze zugeordnet, die entwicklungsgeschichtlich sehr alt und einfach gebaut sind. Das Kommunikationssystem von *Dictyostelium* kann als Vorläufer der wesentlich komplexeren, hormonellen Kommunikation höherer Lebewesen gesehen werden, da die Signalübertragungswege auf molekularer Ebene sehr ähnlich sind. Wegen seines einfachen Lebenszyklus (Bild 4.1) ist *Dictyostelium* zur Untersuchung komplexer biologischer Vorgänge wie Zell-Zell-Kommunikation, biologischer Oszillationen, Zelldifferenzierung und zwei- bzw. dreidimensionaler Musterbildung besonders geeignet.

Dictyostelium-Pilze findet man in unseren Wäldern häufig in verrottem Laub, sind jedoch meist zu klein, um mit bloßem Auge erkannt werden zu können. Der Lebenszyklus dieser sozialen Amöben ist durch zwei ganz unterschiedliche Phasen charakterisiert, die einander abwechseln: ein vegetatives Stadium, in dem die Zellen unabhängig voneinander als Einzelzellen leben, und ein vielzelliges Stadium, in dem die Zellen sich differenzieren und einen Fruchtkörper bilden. Im vegetativen Stadium ernähren sich die Amöben, die etwa so groß wie weiße Blutkörperchen sind (Durchmesser $10\mu\text{m}$), von Bakterien in der Streuschicht des Waldbodens. Die Vermehrung erfolgt durch Zweiteilung. Ist an einer Stelle der Bakterienrasen durch das Wachstum der Zellpopulation vollständig aufgefressen, beginnt die vielzellige Entwicklungsphase. Dazu versammeln sich etwa hunderttausend Einzelzellen in einem Zellhaufen, aus dem nach einigen komplizierten Transformationen ein etwa 1-2 mm großer, aus Stiel und Sporenkopf bestehender Fruchtkörper entsteht (Bild 4.1). Zu Beginn der vielzelligen Entwicklung sind alle Amöben gleich. Im Verlauf der Fruchtkörperbildung differenzieren sie in zwei gänzlich verschiedene Zelltypen, die zum einen den Stiel und zum anderen die Sporen im Sporenkopf bilden. Durch den Stiel wird der Sporenkopf so hoch über den Waldboden erhoben, daß die Sporen ein völlig neues Biotop erreichen. Hier können Wind, Regentropfen oder vorbeistreifende Insekten die Sporen über – aus der Sicht der Einzelzelle – riesige Distanzen in neue Nahrungsgebiete verbreiten. Die Sporen keimen wiederum zu Amöben, und der Entwicklungszyklus beginnt von neuem.

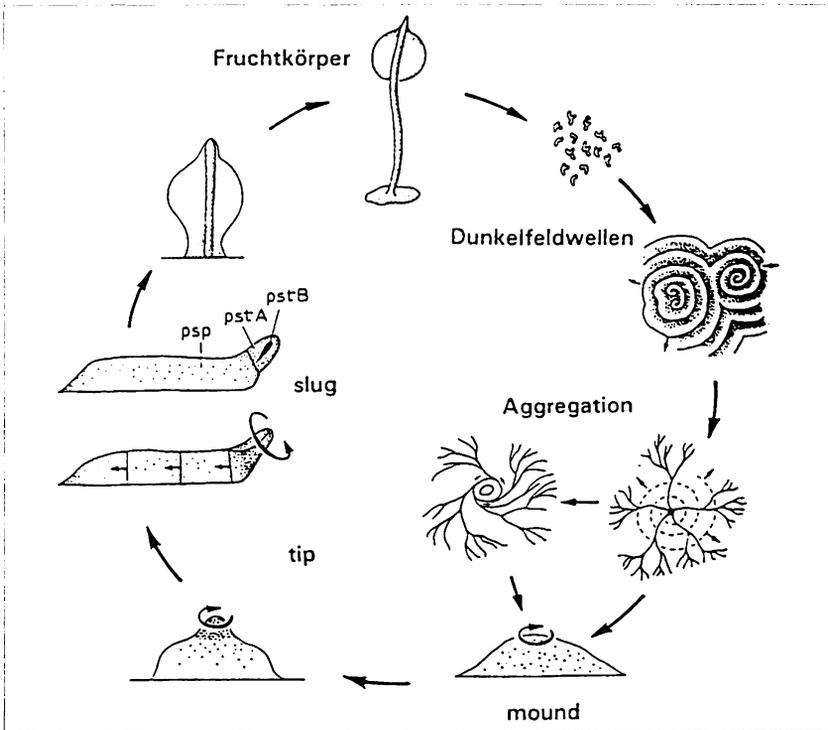


Bild 4.1 Lebenszyklus des Schleimpilzes *Dictyostelium discoideum*. Die Pfeile zeigen die Ausbreitungsrichtung des Signals. Die Punktierung ab dem mound-Stadium markiert die Verteilung der prestalk-Zellen. *psp*: prespore-Zellen, *pstA* u. *pstB*: prestalk-Zellen.

Da nur die Zellen im Sporenkopf eine Chance zur Verbreitung erhalten, Zellen hingegen, die den Stiel bilden, absterben, werden die Schleimpilze oft als soziale Amöben bezeichnet. Tatsächlich führt dieser Verbreitungsmechanismus vorübergehend zu einer Verringerung der Zellzahl, da etwa dreißig Prozent der Zellen für die Stielbildung verbraucht werden. Die Stielzellen „opfern“ sich sozusagen für die Sporenzellen, um deren Verbreitungschance zu verbessern [2]. Aus diesem Verhalten ergeben sich viele interessante Fragestellungen. Auf welcher Grundlage entscheidet sich, ob eine Zelle zu einer Stiel- oder Sporenzelle wird? Wann beginnt dieser Differenzierungsprozess? Welche Signale steuern den eigenartigen Entwicklungszyklus?

Spiralförmige Signalausbreitung

Da *Dictyostelium* an der Schwelle vom ein- zum vielzelligen Lebewesen steht, eignet sich dieser Organismus besonders gut, um Fragen der biologischen Selbstorganisation zu untersuchen. Zum einen existieren die Amöben als eigenständige Einzelzellen, zum anderen werden sie durch einen übergeordneten Kontrollmechanismus gesteuert, der völlig neue, für Vielzeller typische Systemeigenschaften hervorruft. Von besonderem Interesse ist dabei das Kommunikationssystem, das so komplexe Verhaltensweisen ermöglicht. Während der Anfangsphase des Entwicklungszyklus, in der die Zellen auf zentrale Aggregationspunkte zuwandern, kann man das Kommunikationssystem unter geeigneten experimentellen Bedingungen beobachten. Dabei zeigt sich, daß sich das Aggregations-signal in Form von Spiralwellen oder konzentrischen Ringen ausbreitet (vgl. Bild 4.2, Tafel 5 u. [1]). Besonders die Spiralwellen weisen verschiedene Eigenschaften auf, die für eine ganze Klasse von Systemen typisch sind, die sogenannten *erregbaren Systeme* (vgl. Kap. 12): Wie bereits an anderer Stelle erwähnt, werden Systeme als *erregbare Medien* bezeichnet, die nach Störung durch einen geeigneten Stimulus aus der Ruhephase vorübergehend in einen angeregten Zustand übergehen, um anschließend wieder in den Ruhezustand zurückzukehren. Erst nach einer gewissen „Refraktärzeit“ kann das System wieder voll stimuliert werden. In solchen dynamischen Systemen breiten sich Störungen in Form von Wellen über das Medium aus [3]. Aufeinandertreffende Wellen löschen sich aufgrund der Refraktärzeit aus, und Wellenfronten wandern über viel größere Distanzen, als durch reine Diffusionsvorgänge erklärt werden kann.

Langwierige biochemische Untersuchungen zeigten, daß das Signalmolekül der Amöben zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) ist [2]. Zu Beginn der Aggregation beginnen einige Zellen periodisch cAMP abzugeben. Wahrscheinlich sind es die am längsten unter Nahrungsmangel leidenden Zellen, die für diese initiale Störung verantwortlich sind und die Spiralwellen auslösen. Die umliegenden Amöben erkennen das cAMP über Oberflächenrezeptoren und beginnen ihrerseits mit der Sekretion von cAMP. So wird das diffundierende cAMP-Signal ständig verstärkt und kann über große Entfernungen weitergeleitet werden. Maßgeblich hierfür ist eine autokatalytische Rückkopplung, die sich in der Stimulation der cAMP-Produktion durch Bindung von cAMP an den

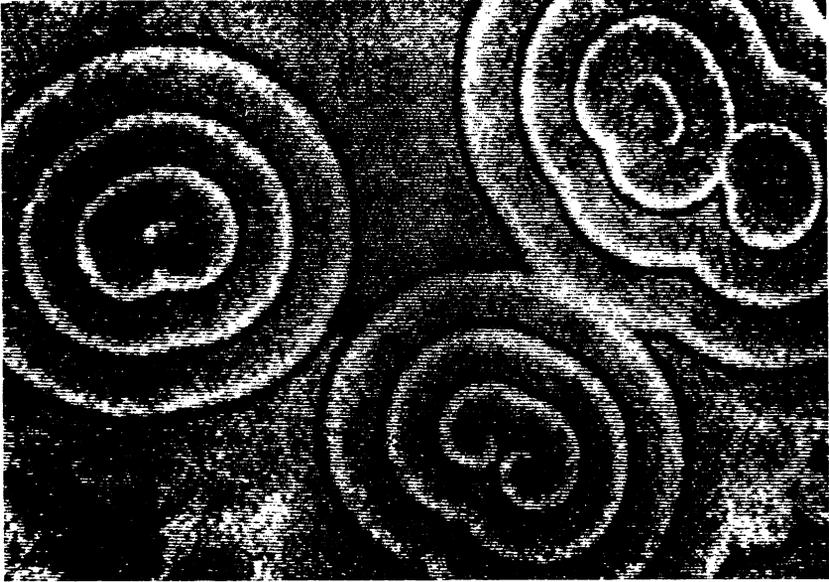


Bild 4.2 Spiralwellen von *Dictyostelium discoideum*, wie sie während der Aggregationsphase unter Dunkelfeldbedingungen zu beobachten sind.

cAMP-Rezeptor manifestiert. Gleichzeitig kommt es aber auch zu einer Desensitivierung des Rezeptors, d. h. der Rezeptor reagiert bei zunehmender cAMP-Anbindung nicht mehr so empfindlich, was auf die Signalausbreitung hemmend wirkt. Dieses Wechselspiel aktivierender und hemmender Prozesse führt dazu, daß sich auf dem Substrat verteilte *Dictyostelium*-Zellen wie ein erregbares Medium verhalten, in dem sich das cAMP-Signal in Form von Wellen ausbreitet. Nach einer Stimulation mit cAMP beginnen die auf dem Substrat verstreuten Amöben also selbst cAMP zu produzieren und gleichzeitig auf das Aggregationszentrum zuzuwandern. Die Front einer sich ausbreitenden cAMP-Welle bietet den Zellen für ein bis zwei Minuten einen chemischen Gradienten, an dem sie sich in Richtung Zentrum orientieren. Solange die cAMP-Konzentration in der Welle ansteigt, bewegen sich die Zellen in Richtung höherer cAMP-Konzentration. Dieser Bewegungsvorgang, bei dem die Zellen ihre Pseudopodien („Scheinfüßchen“) in Richtung steigender cAMP-Konzentration ausstrecken, wird als chemotaktisch bezeichnet. Die Zellen bleiben stehen, sowie das Maximum der Welle vorüber ge-

zogen ist und die cAMP-Konzentration wieder fällt. Bis zur Ankunft der nächsten Wellenfront bewegen sich die Zellen nur noch langsam und strecken Pseudopodien in alle Richtungen aus. Dieses Verhalten weist auf einen Adaptationsprozeß hin, der die chemotaktische Bewegung bei sinkender cAMP-Konzentration beendet. Die Hemmung der chemotaktischen Bewegung gewährleistet, daß die Zellen sich nur in Richtung Zentrum bewegen und nicht etwa der vorüberziehenden Welle „hinterherlaufen“ – ganz ähnlich wie die Hemmung der cAMP-Produktion sicherstellt, daß sich die cAMP-Wellen vom Zentrum weg ausbreiten. Die chemotaktische Bewegung ist Grundlage der makroskopisch sichtbaren Spiralmuster. Die hellen und dunklen Banden der Spiralmuster werden durch die unterschiedlichen Lichtbrechungseigenschaften sich bewegender und ruhender Zellen verursacht (Bild 4.2).

Simulation der Rezeptordynamik

1987 veröffentlichten Goldbeter und Martiel ein Modell zur Beschreibung der im *Dictyostelium*-System experimentell beobachteten cAMP-Oszillationen und cAMP-Signalverstärkung [4]. Ausgangspunkt dieses Modells ist ein biochemischer Reaktionsmechanismus, dessen wesentliche Komponenten schematisch in Bild 4.3 dargestellt sind. Auf der Außenseite der Plasmamembran jeder *Dictyostelium*-Zelle befinden sich cAMP-Rezeptoren, die in zwei verschiedenen Konformationen R und D vorliegen. Die beiden Formen des Rezeptors können ineinander übergehen, wobei die Konformation D dem unsensitiven Zustand entspricht. Bindet extrazelluläres cAMP an einen Rezeptor der Konformation R, so kann der entstandene Komplex ein wichtiges Enzym, die Adenylatcyclase, zur Produktion neuer cAMP-Moleküle im Zellinnern anregen. Dieses zusätzliche cAMP wird aus Adenosinriphosphat (ATP), einem wichtigen Energielieferanten vieler Stoffwechselprozesse, gebildet. Durch Transportvorgänge gelangt ein Teil des neu entstandenen cAMP in den extrazellulären Raum, wodurch es hier zu einer Erhöhung der cAMP-Konzentration kommt.

Andere Enzyme, die als Phosphodiesterasen (PD) bezeichnet werden, bewirken die Umwandlung der cAMP-Moleküle in Adenosinmonophosphat (5'-AMP) und führen somit zu einer Verringerung der cAMP-Konzentration. Das Zusammenspiel verstärkender und hemmender Prozesse

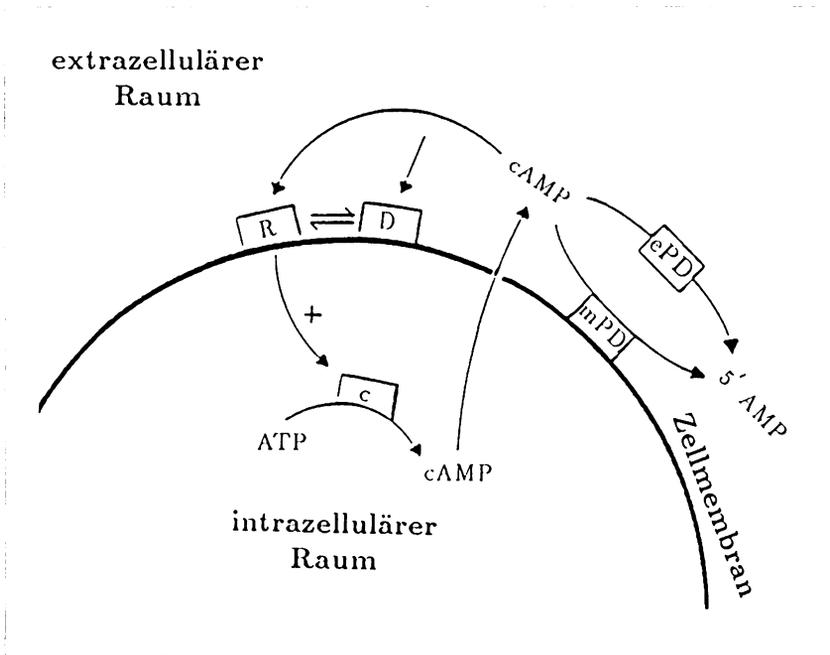


Bild 4.3 Die biochemischen Grundlagen zeitlicher cAMP-Oszillationen bei *Dictyostelium* (nach [4], Erläuterungen im Text).

wurde nun von Martiel und Goldbeter in Gestalt eines mathematischen Modells formuliert. Die Übersetzung biochemischer Reaktionsgleichungen in gewöhnliche Differentialgleichungen basiert auf der Tatsache, daß die Abnahme Δc einer Konzentration c in der Zeit Δt bei Reaktionen erster Ordnung – proportional zur Substanzkonzentration c selbst ist. Der für die jeweilige Reaktion charakteristische Proportionalitätsfaktor wird als Geschwindigkeitskonstante bezeichnet. Bei zunehmender Verkürzung der Zeitschritte Δt geht der Ausdruck $\frac{\Delta c}{\Delta t}$ in die zeitliche Ableitung $\frac{dc}{dt}$ über, und wir erhalten eine gewöhnliche Differentialgleichung. Im Falle des Martiel-Goldbeter-Modells handelt es sich um ein System von neun Differentialgleichungen, die untereinander gekoppelt sind. Verschiedene Vereinfachungen erlauben es aber, die Beschreibung der Systemdynamik auf zwei wesentliche Variablen und somit zwei Differentialgleichungen zu reduzieren:

Das vereinfachte Martiel-Goldbeter-Modell

$$\frac{d\gamma}{dt} = f(\gamma, \rho),$$

$$\frac{d\rho}{dt} = g(\gamma, \rho).$$

Die zeitlich veränderlichen Variablen $\gamma(t)$ und $\rho(t)$ beschreiben die extrazelluläre cAMP-Konzentration bzw. den speziellen Anteil der vorhandenen Rezeptoren, welche die Adenylatcyclase zur cAMP-Produktion anregen können. Die Funktionen f und g charakterisieren die wesentlichen Eigenschaften von cAMP-Produktion und Abbau im *Dictyostelium*-System sowie die Desensitivierung des Rezeptors.

Das Differentialgleichungspaar stellt somit den eigentlichen Kern des ursprünglich sehr komplexen Modells dar. Numerische Lösungen des Gleichungssystems zeigen, daß in Abhängigkeit von bestimmten Parametern der Funktionen f und g sowohl oszillierendes als auch erregbares Verhalten auftreten kann. Unter erregbar versteht man hier die charakteristische Antwort des Systems auf eine kleine cAMP-Zugabe, die zur schnellen autokatalytischen Produktion neuen cAMPs führt. Diese wird durch die Desensitivierung der aktiven Rezeptoren (ρ) begrenzt, und das System kehrt in den Ausgangszustand vor der Störung zurück. Die externe cAMP-Konzentration γ wird daher auch als schnelle autokatalytische Variable und ρ als langsame Kontrollvariable bezeichnet. Die numerischen Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Experimenten – so können die Perioden (ca. zehn Minuten) und cAMP-Konzentrationsänderungen (bis zu hundertfach) gut vom Modell reproduziert werden.

Modellierung der Schleimpilzaggregation

Das vorgestellte Martiel-Goldbeter-Modell beschreibt die Dynamik der Schleimpilzamoeben für räumlich homogene Medien wie sie in gut gerührten Zellkulturen realisiert sind. Zur Modellierung raumzeitlicher Vorgänge (z. B. während der Aggregationsphase) müssen Transportvorgänge berücksichtigt werden, die lokale Prozesse miteinander koppeln. Für den

Schleimpilz *Dictyostelium* existieren im wesentlichen zwei derartige Transportmechanismen: die Diffusion¹ des cAMP im extrazellulären Bereich und die chemotaktische Bewegung der Amöben selbst.

Das erweiterte Martiel-Goldbeter-Modell

1989 erweiterten Tyson et al. das Martiel-Goldbeter-Modell um einen Diffusionsterm $D\Delta\gamma$ für die Variable γ (extrazelluläre cAMP-Konzentration) und untersuchten numerische Lösungen des resultierenden partiellen Differentialgleichungssystems auf einer zweidimensionalen Fläche [5]:

$$\begin{aligned}\frac{\partial\gamma}{\partial t} &= D\Delta\gamma + f(\gamma, \rho), \\ \frac{\partial\rho}{\partial t} &= g(\gamma, \rho).\end{aligned}$$

Die numerischen Berechnungen obiger Gleichungen zeigen die Ausbreitung von cAMP-Konzentrationswellen, die unter bestimmten Bedingungen die Form rotierender Spiralen oder expandierender Kreismuster haben und somit die charakteristischen Dunkelfeldstrukturen der Aggregationsphase wiedergeben (Bild 4.4).

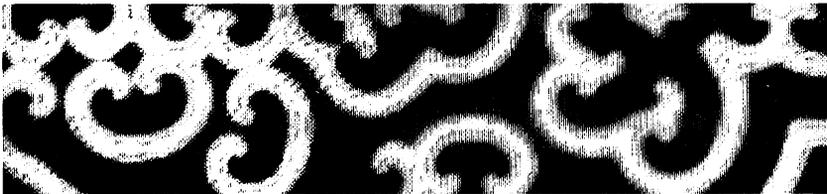


Bild 4.4 Simulation der cAMP-Signalausbreitung eines um die Diffusion von extrazellulärem cAMP erweiterten Modells (nach [5]).

Dieses Gleichungssystem gehört zu einer wichtigen Klasse partieller Differentialgleichungen, die als Reaktions-Diffusions-Gleichungen bezeichnet werden. Es ist formal mit gewissen Modellen chemischer Systeme, wie dem Oregonator-Modell der Belousov-Zhabotinsky (BZ)-Reaktion

¹ Entsprechend dem zweiten Fickschen Gesetz der Diffusion gilt $\frac{\partial\gamma}{\partial t} = D\Delta\gamma$. Δ wird als Laplaceoperator bezeichnet, und D ist der Diffusionskoeffizient von γ .

eng verwandt (vgl. Kap. 12). Die Vernachlässigung der Zellbewegung ist in erster Näherung durch die vergleichsweise um ein Vielfaches höhere Geschwindigkeit der cAMP-Wellen gerechtfertigt. Die Zellbewegung wird in diesem Reaktions-Diffusions-Ansatz vielmehr als bloße Wirkung der zugrundeliegenden Kontrolle durch die Signalwellen angesehen.

Dynamik der vielzelligen Entwicklungsphase

Im Verlauf der Aggregation bilden die Amöben Zell-Zell-Kontakte und wandern in Strömen auf das Aggregationszentrum zu. Die Grenzen der Aggregationsterritorien bilden sich dort, wo Wellen verschiedener Zentren aufeinandertreffen. Nach etwa vier Stunden haben sich alle Zellen eines Aggregationsfeldes im Zentrum versammelt. Das Aggregat erhebt sich langsam in die Luft und bildet am höchsten Punkt eine spezifische Struktur, die sogenannte *tip* (deutsch: Spitze).

Die postaggregative Entwicklung von *Dictyostelium* zeigt verschiedene Eigenschaften der Embryonalentwicklung höherer Lebewesen in vereinfachter Form. Aus der ursprünglichen Population gleichartiger Zellen differenzieren sich zwei verschiedene Zelltypen. Das sind zum einen die sogenannten *prestalk*-Zellen, Vorläuferzellen des Stiels (engl.: stalk) und zum anderen *prespore*-Zellen, Vorläuferzellen der Sporen (engl.: spore), die im Verlauf der weiteren Entwicklung den Stiel bzw. die Sporen des Fruchtkörpers bilden. Morphologisch lassen sich diese Zellen schon früh anhand der unterschiedlichen Anzahl intrazellulärer Vesikel (bläschenförmige Organellen) unterscheiden. Diese Eigenschaft wird ausgenutzt, um mit spezifischen Farbstoffen die zukünftigen Stielzellen sichtbar zu machen.

Als nächstes verwandelt sich das Aggregat in eine wurmartige Gestalt, den sogenannten *slug*. Das *slug*-Stadium ermöglicht es dem Aggregat, sich als Ganzes zu bewegen und einen für die Fruchtkörperbildung günstigen Ort an der Oberfläche der Laubschicht aufzusuchen. An der Spitze des *slug* wird eine Schleimhülle produziert, die namensgebend für die ganze Familie der Schleimpilze ist. Die Schleimhülle erleichtert das koordinierte Verhalten der etwa hunderttausend Einzelzellen und wird während der *slug*-Wanderung beständig zurückgelassen. Im *slug* bilden die beiden Zelltypen entlang der Körperachse ein einfaches Differenzierungsmuster (Bild 4.1). Die vorderen 20% des *slug* bestehen aus *prestalk*-

Zellen, der verbleibende Rest aus *prespore*-Zellen. Die Proportionen beider Zelltypen bleiben konstant. Wird dieses Muster gestört, z. B. durch Zerschneiden des *slug*, können die Zellen das ursprüngliche Proportionsverhältnis durch Umdifferenzierung wieder herstellen.

Sobald sich Zellströme ausbilden, läßt sich die Signalausbreitung nicht mehr direkt beobachten. Um zu klären, ob cAMP-Spiralwellen, autonome Oszillationen und Chemotaxis auch im *slug*-Stadium vorhanden sind, untersuchten wir die Bewegung von markierten Einzelzellen. Dieser Umweg wurde gewählt, da cAMP beim heutigen Stand der Technik in den vielzelligen Stadien nicht direkt gemessen werden kann. Grundlage dieser Experimente bildete die Hypothese, daß einer periodischen Zellbewegung auch periodische Signale zugrunde liegen sollten. Die in der frühen Aggregationsphase sichtbare Ausbreitung von Spiralwellen führt dazu, daß die Amöben im Aggregationsfeld durch jede neue cAMP-Welle zu einem chemotaktischen Bewegungsschritt stimuliert werden. Sichtbarer Beweis dieser periodischen Zellbewegung sind die hellen und dunklen Bandenmuster (vgl. Bild 4.2). Periodisch auftretende, chemotaktische Zellbewegung ist also ein guter Indikator für ein auf chemischen Wellen beruhendes Kommunikationssystem.

Bewegungsanalyse mit digitaler Bildverarbeitung

Die Bewegungsanalyse fluoreszenzmarkierter Einzelzellen ergab, daß Zellen in der *prespore*-Zone eines *slug* sich periodisch bewegen, d. h. die Bewegungsrate dieser Zellen in regelmäßigen Abständen zu- und wieder abnimmt. Zudem zeigen die Amöben Verhaltensweisen, wie sie für chemotaktische Bewegungsvorgänge typisch sind. In Phasen langsamer Zellbewegung strecken die Amöben Pseudopodien in verschiedene Richtungen aus, so als ob sie versuchten, einen chemischen Gradienten zu erkennen [6]. In Phasen schneller Zellbewegung weisen sie dagegen immer eine in Bewegungsrichtung des *slug* liegende, ausgestreckte Zellform auf. Beide Ergebnisse sind starke Indizien dafür, daß das chemische Signalsystem auch in der vielzelligen Entwicklungsphase beibehalten wird.

Möglich wurden diese Messungen durch die neue Technik der digitalen Bildverarbeitung, mit deren Hilfe wir einzelne Amöben automatisch über einen längeren Zeitraum verfolgen und ihre Zellformänderungen als Funktion der Zeit analysieren können. Die Analyse fluoreszenzmarkier-



Bild 4.5 Zellbewegungsspuren in der vorderen Hälfte (rechts) eines *slug*.

ter Zellen hat jedoch den Nachteil, daß sich nur wenige Zellen gleichzeitig untersuchen lassen. Daher entwickelten wir andere Methoden, die die Bewegungsanalyse ganzer Zellpopulationen erlauben. Diese Experimente lieferten unerwartete Ergebnisse [7]. *Prestalk*- und *prespore*-Zellen bewegen sich im *slug* überraschenderweise in völlig unterschiedliche Richtungen. Zellen in der *prespore*-Zone wandern, wie wir schon von den Fluoreszenzmessungen wußten, geradeaus in Bewegungsrichtung des *slug*. Im Gegensatz dazu bewegen sich die *prestalk*-Zellen senkrecht zur Bewegungsrichtung des *slug*, d. h. sie rotieren in der *slug*-Spitze (Bilder 4.1 u. 4.5). In Bild 4.5 sind die Bewegungsspuren über einen Zeitraum von 60 Sekunden aufgezeichnet und als Linien dargestellt. Die Zellen in der hell erscheinenden *prespore*-Zone bewegen sich geradeaus in gleicher Richtung wie der *slug* (von links nach rechts). Die Zellen in der *prestalk*-Zone (dunkler Teil) bewegen sich immer in einem Winkel zur Längsachse des *slug*, d. h. sie rotieren in der *tip*. Wie sollten wir diesen Befund verstehen?

Da sich chemotaktisch bewegende Zellen in Richtung höherer Stimulanskonzentration orientieren, sind Zellbewegung und Signalausbreitung gegenläufig. Aus diesem Grund ließen die experimentellen Analysen der

Zellbewegung für die Ausbreitung des Signals nur eine Interpretation zu: Am Übergang zur *prespore*-Zone wandelt sich eine dreidimensionale Spiralwelle in eine ebene Wellenfront um. Die Spiralwelle sollte sich um ein unerregbares Zentrum entlang der Spitze des *slug* drehen und so die beobachtete rotierende Zellbewegung hervorrufen. Der in der *prespore*-Zone beobachteten periodischen Zellbewegung sollten Wellenfronten zugrunde liegen, die sich im zylinderförmigen *slug* von vorne nach hinten ausbreiten. Im Übergangsbereich zwischen *prestalk*- und *prespore*-Zone sollte sich unserer Voraussage nach die Spiralwelle in eine ebene Wellenfront umwandeln. Obwohl es äußerst schwierig war, sich diesen Übergang plastisch vorzustellen, ließ die Bewegungsanalyse keine überzeugendere Schlußfolgerung zu. Wir nahmen an, daß eine geringere Erregbarkeit der *prespore*-Zellen die Ursache dieses eigenartigen Phänomens sein könnte. Diese Annahme wird durch verschiedene experimentelle Befunde bestärkt. Auch die Morphologie des *slug* verdeutlicht, daß beide Zelltypen unterschiedliche Eigenschaften haben müssen, da die Spitze des *slug* einen etwa fünfmal kleineren Durchmesser als der eigentliche *slug* hat.

Unsere Bewegungsanalyse legte nahe, daß der *slug* ein dreidimensionales, erregbares System ist, in dem es Regionen verschiedener Erregbarkeit gibt. Dem unterschiedlichen Verhalten von *prestalk*- und *prespore*-Zellen liegt wahrscheinlich eine unterschiedliche Erregbarkeit der beiden Zelltypen zugrunde. Die *prestalk*-Zellen sind demnach schneller erregbar und dominieren aufgrund der daraus folgenden höheren Oszillationsfrequenz die *prespore*-Zellen. Die *slug*-Spitze ähnelt in dieser Hinsicht einem Aggregationszentrum, das den Rest des *slug* kontrolliert.

Simulation der Signalausbreitung in Slugs

Trotz dieser einleuchtenden Erklärung des beobachteten Bewegungsmusters blieb unsere Interpretation weitgehend spekulativ und wir suchten nach Möglichkeiten zur Untermauerung unserer Hypothese. Die überraschend guten Ergebnisse des Martiel-Goldbeter-Modells und seiner räumlichen Erweiterung in zwei Dimensionen ermutigten uns zur numerischen Simulation der Wellenausbreitung in dreidimensionalen *slugs*. Da der Kern der existierenden Schleimpilz-Modelle ein komplexes Reaktions-Diffusions-System partieller Differentialgleichungen ist, entschlossen wir uns – zur Verkürzung der Rechendauer – ein in den kinetischen Funk-

tionen f und g stark vereinfachtes Gleichungssystem zu verwenden [8]. Dieser Schritt ist gerechtfertigt, da unsere Problemstellung nicht mit der quantitativen Analyse von Wellenprofilen, Amplituden oder exakten Perioden verknüpft ist, sondern in der Überprüfung qualitativer Eigenschaften erregbarer bzw. oszillatorischer Reaktions-Diffusions-Systeme besteht.

Zur Modellierung der Geometrie von *Dictyostelium-slugs* verwendeten wir einen länglichen Zylinder, der in einem rechteckigen Kasten eingebettet ist. Die Punkte innerhalb des Zylinders gehorchen einer erregbaren Kinetik, die im Zusammenwirken mit der Diffusion der schnellen Variablen Wellenausbreitung ermöglicht. Die den Zylinder umgebenden Punkte weisen eine unerregbare Kinetik auf. Obwohl cAMP in dieses Gebiet hinein diffundieren kann, wird es außerhalb des Zylinders nicht autokatalytisch vermehrt und modelliert somit die Schleimhülle des *slug*.

Als Anfangsbedingung unserer Simulationsversuche diente die einfachste Form einer dreidimensionalen Spiralwelle, welche mit konstanter Periode stabil um die zentrale Längsachse des Zylinders rotiert. Ein solches Wellenmuster wird wissenschaftlich als *scroll wave* bezeichnet. Der Leser kann sich ihre Geometrie leicht durch ein zusammengerolltes Blatt Papier veranschaulichen, das in der direkten Aufsicht eine zweidimensionale Spirale ergeben muß. Die Drehachse einer dreidimensionalen Spiralwelle wird als Filament bezeichnet und kann in komplexeren Strukturen einem Korkenzieher ähnlich eine gerade Linie umwinden oder sogar kreisförmig geschlossen sein (*scroll ring*). Derartige Wellenstrukturen sind aus der chemischen Belousov-Zhabotinsky-Reaktion gut bekannt und ihre dynamischen Eigenschaften ansatzweise charakterisiert.

Erregbarkeitssprünge verursachen Bewegungsmuster

In der von uns formulierten Hypothese zur Erklärung des Zellbewegungsmusters in *Dictyostelium-slugs* wird der Übergang von einer rotierenden *scroll wave* in planare Wellenfronten durch eine sprunghafte Änderung der dynamischen Eigenschaften des Systems zwischen *prestalk*- und *prespore*-Bereich erklärt. Der eigentliche Test dieser Hypothese besteht somit in der Veränderung eines der dynamischen Parameter unseres Modells im „hinteren“ *prespore*-Bereich des Zylinders und der Beobachtung der dadurch ausgelösten Veränderungen. Als *prespore*-Bereich wird hier-

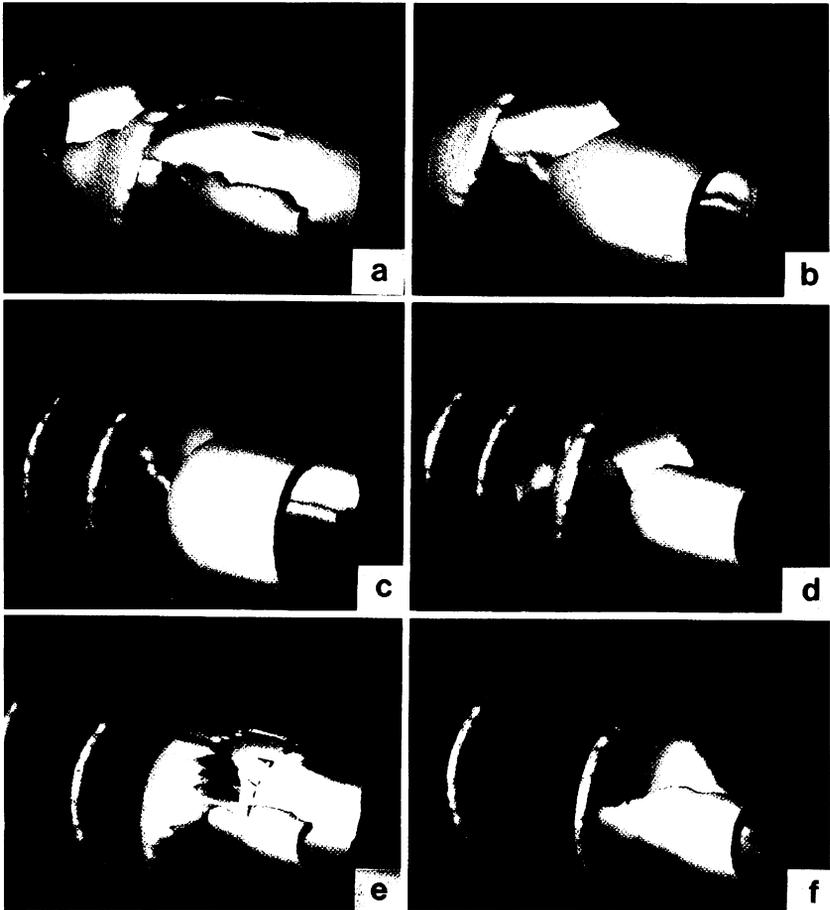


Bild 4.6 Simulation der Wellenausbreitung in *slugs*. In horizontaler Richtung sind je zwei verschiedene Zeitpunkte dargestellt, von oben nach unten (a,c,e bzw. b,d,f) wird die Größe des Erregbarkeitssprungs erhöht.

bei, in Anlehnung an die Verteilung der beiden Zelltypen im *slug*, ein 80 % des Gesamtvolumens ausmachender Teil des Zylinders verstanden. Somit teilt sich der gesamte erregbare Bereich in zwei hintereinander liegende Zylinder, die sich in ihren dynamischen Eigenschaften oder – kurz gesagt – in ihrer Erregbarkeit unterscheiden. Bild 4.6 zeigt in horizontaler Richtung die numerisch berechnete Wellenstruktur zu zwei ver-

schiedenen Zeitpunkten nach Einstellung des „Erregbarkeitssprunges“. Von oben nach unten wird die Größe des Erregbarkeitssprunges variiert (ab,cd,ef). Die rechten Seiten der Strukturen in jedem Einzelbild entsprechen dem dynamisch aktiveren *prestalk*-Bereich, der linke Teil jeweils der *prespore*-Zone mit niedriger Erregbarkeit. Die Wellen kennzeichnen die Abschnitte hoher cAMP-Konzentration. Die Sequenz zeigt deutlich, daß sich durch eine Erniedrigung der Erregbarkeit die stabile *scroll wave* beim Eintritt in die *prespore*-Zone verdreht (*twisted scroll wave*) (a,b). Ein etwas größerer Erregbarkeitssprung führt zu einer stärkeren Verdrehung der *twisted scroll wave* (c,d), bis sich bei einem noch größeren Erregbarkeitssprung ganz deutlich planare Wellenfronten abtrennen (e,f). In allen drei Fällen erreicht das System nach Einführung des Erregbarkeitssprunges einen regelmäßigen und dynamisch stabilen Zustand, der mit unserer obigen Hypothese hervorragend übereinstimmt (vgl. auch Bild 4.7). Während die *scroll wave* im vorderen *prestalk*-Bereich nahezu unverändert um die Längsachse des Zylinders rotiert, zeigt die schmale Grenzregion der beiden Bereiche eine komplexere raumzeitliche Entwicklung, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. Die planaren Fronten des *prespore*-Bereiches sind nahezu senkrecht zur Längsachse orientiert und breiten sich gegenläufig zur *slug*-Bewegung nach rechts aus (e,f).

Die im Experiment beobachtete Rotation der Amöben im vorderen Teil des *slug* kann also wirklich durch eine rotierende Erregungswelle erhöhter cAMP-Konzentration hervorgerufen werden, die durch eine relative Verringerung der Erregbarkeit im *prespore*-Bereich in ebene Wellen zerfällt. Man beachte, daß ihre Ausbreitungsrichtung gegenläufig zur Gesamtbewegung des *slug* ist und daher die vorwärts gerichtete, periodische Zellbewegung im eigentlichen Körper des *slug* erklärt. Eine genauere Betrachtung des *prespore*-Bereiches zeigt eine leicht konvexe Form der einzelnen Wellenfronten, die zu einer Fokussierung der chemotaktischen Zellbewegung auf die Längsachse und damit zur Stabilisierung der zylindrischen Form des *slug* führt.

Unsere Computersimulationen legen nahe, daß Spiralwellen nicht nur die Aggregation, sondern auch die vielzellige Entwicklung und hier besonders das *slug*-Stadium organisieren. Das komplizierte System aus zwei- und dreidimensionalen Wellen dient dazu, das Verhalten Hunderttausender Einzelzellen zu kontrollieren. Der biologische Sinn liegt darin, daß in Form des *slug* viele Zellen gemeinsam einen günstigen Ort zur Fruchtkörperbildung und damit zur Verbreitung der Sporen aufsuchen können.



Bild 4.7 Simulation der Wellenausbreitung in *slugs* (vgl. Bild 4.6). Gezeigt ist die Vergrößerung einer als *twisted scroll wave* bezeichneten dynamischen Struktur aus dem in Bild 4.6 gezeigten Verlauf.

Die *prespore*-Zellen im *slug* orientieren ihre chemotaktische Aktivität an den von der Spitze kommenden planaren Wellenfronten. Indem sie koordiniert in Richtung der Signalquelle wandern, sind sie für die Bewegung des gesamten *slug* verantwortlich. In Form der *tip* tragen sie ihren eigenen Signalgeber mit sich. Die rotierenden *prestalk*-Zellen in der Spitze dienen den *prespore*-Zellen als Signalgeber und tragen wahrscheinlich selbst nicht zur Bewegung des *slug* bei.

Ausblick

Die vorgestellten experimentellen und numerischen Untersuchungen von *Dictyostelium-slugs* stellen wahrscheinlich die erste Erklärung kollektiver, selbstorganisierter Bewegung eines vielzelligen Organismus dar. Es ist zu hoffen, daß weitere Eigenschaften der *slug*-Wanderung durch die konsequente Weiterführung des Reaktions-Diffusions-Ansatzes verstanden werden können. Als Beispiel sei die phototaktische Reaktion des *slug*

erwähnt. Wir wissen, daß es unter Lichteinwirkung lokal zur Veränderung der Ammoniumkonzentration kommen kann, und es wurde gezeigt, daß Ammonium das Verhalten der Zellen sowohl in der frühen Aggregationsphase als auch während der Fruchtkörperbildung beeinflusst. Könnte nicht eine Lichtquelle zusätzliche Erregbarkeitsgradienten im *slug* erzeugen, die die Rotationsachse der *scroll wave* und somit den Winkel der planaren Wellenfronten im *prespore*-Bereich verändert? Eine solche Reaktion der Wellenmuster würde zwangsläufig die Bewegungsrichtung des *slug* verändern und ein (negatives oder positives) phototaktisches Verhalten auslösen. Desweiteren ist die Wechselwirkung zwischen der lokalen cAMP-Dynamik und der Aktivierung spezifischer Gene der *Dictyostelium*-Zellen von überaus großem Interesse.

Daß die bei *Dictyostelium* beobachteten Phänomene keinen kuriosen Spezialfall darstellen, zeigt der Vergleich mit einem völlig anderen System. Es besteht nämlich eine erstaunliche Analogie zwischen der Ausbreitung von Spiralwellen während der *Dictyostelium*-Aggregation und Spiralwellen des chemischen Oszillatorsystems der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion (vgl. Kap. 12). Die Grundlagen der räumlichen Musterbildung in der BZ-Reaktion, d. h. die Ausbreitung von Planar- und Spiralwellen, wurden in den letzten Jahren experimentell und theoretisch untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß gleiche Prinzipien die Ausbreitung der Dunkelfeldwellen bei *Dictyostelium* steuern [9]. Kürzlich wurden dreidimensionale Spiralwellen in der BZ-Reaktion beobachtet; in agargefüllten Glasröhrchen wandeln sich dreidimensionale Spiralwellen entlang eines Gradienten, der die Erregbarkeit des Systems verändert, zuerst in verdrehte Spiralwellen (*twisted scroll waves*) und dann in planare Wellen um [10]. Diese Beobachtungen stimmen gut mit unserer Hypothese der Signalausbreitung in *slugs* überein. Die Befunde im BZ-System, die unmittelbar die Wellenausbreitung zeigen, beweisen, daß die geforderte Umwandlung von Spiral- in Planarwellen in einem erregbaren System prinzipiell möglich ist.

Interdisziplinäre Zusammenarbeit und die Kombination von Experiment und Computersimulation haben in dem hier geschilderten Fall unser Verständnis komplizierter biologischer Sachverhalte erheblich verbessert. Aufgrund biologischer Experimente wurden Voraussagen getroffen, die anhand von Computersimulationen bestätigt werden konnten. Nun sind wir in der Lage, die numerischen Ergebnisse der Simulation als Grundlage für neue Experimente zu verwenden und somit theoretische Vorhersagen am lebenden System zu überprüfen.

Literaturverzeichnis

- [1] P. N. Devreotes (1989) *Dictyostelium discoideum*: A model system for cell-cell interactions in development. *Science* **245** 1054
- [2] J. T. Bonner (1988) Lockstoffe sozialer Amöben. In: *Biologie des Sozialverhaltens. Spektrum der Wissenschaft: Verständliche Forschung*, Heidelberg
- [3] A. T. Winfree (1987) *When Time Breaks Down*. Princeton University Press, Princeton, NJ
- [4] A. Goldbeter und J. Martiel (1987) A model based on receptor desensitization for cyclic AMP signaling in *Dictyostelium* cells. *Biophys. J.* **52** 807
- [5] J. J. Tyson, K. A. Alexander, V. S. Manoranjan und J. D. Murray (1989) Spiral waves of cyclic AMP in a model of slime mould aggregation. *Physica D* **34** 193
- [6] F. Siegert und C. J. Weijer (1993) The role of periodic signals in the morphogenesis of *Dictyostelium discoideum*. In: L. Rensing (Hrsg.) *Oscillations and Morphogenesis*. Marcel Dekker, New York
- [7] F. Siegert und C. J. Weijer (1992) Three-dimensional scroll waves organize *Dictyostelium* slugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89** 6433
- [8] O. Steinbock, F. Siegert, S. C. Müller und C. J. Weijer (1993) Three-dimensional waves of excitation during *Dictyostelium* morphogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90** 7332
- [9] P. Foerster, S. C. Müller und B. Hess (1990) Curvature and spiral geometry in aggregation patterns of *Dictyostelium discoideum*. *Development* **109** 11
- [10] T. Yamaguchi und S. C. Müller (1991) Front geometries of chemical waves under anisotropic conditions. *Physica D* **49** 40