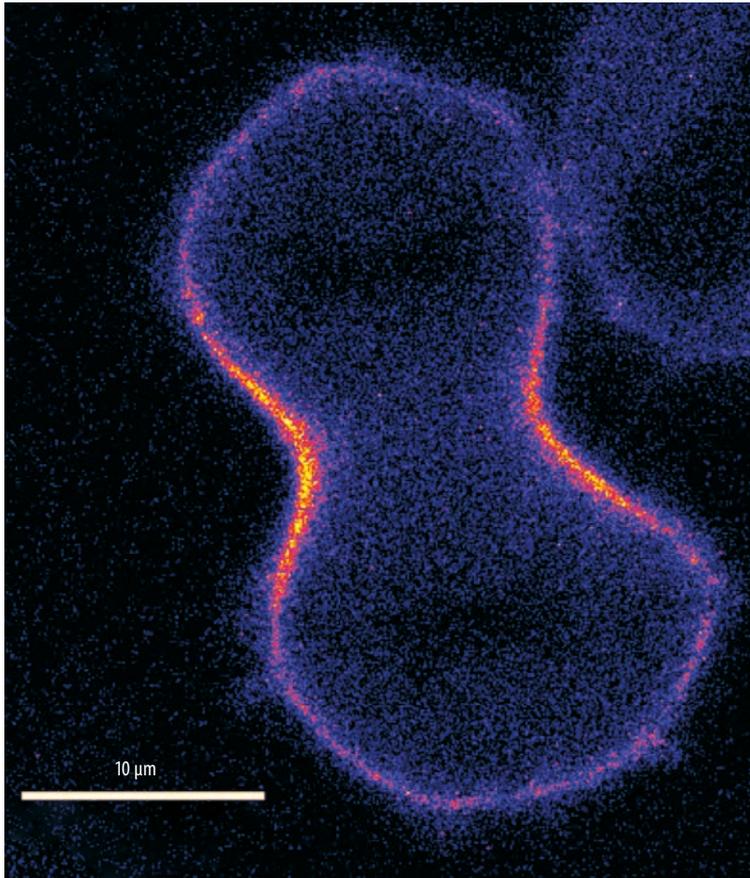


# Formbar fürs Leben

Mit einem speziellen Verfahren lässt sich die Oberflächenspannung einer Zelle untersuchen und mögliche Veränderung durch eine Krebserkrankung zeigen.

Elisabeth Fischer-Friedrich



◀ Während der Zellteilung verformt sich die Zelle selbst. Die Mikroskopieaufnahme zeigt die Fluoreszenzintensität eines fluoreszenzmarkierten molekularen Motorproteins (Myosin IIA) im Zellquerschnitt. Die erhöhte Fluoreszenzintensität im konkaven Teil der Zelloberfläche deutet den kontraktilen Zellskeletting an, welcher im Begriff ist, die Zelle abzuschneiden. Eine weitere Zelle ist oben rechts im Bild anteilig sichtbar.

rinnen haben Messmethoden und Theorien entwickelt, um Materialeigenschaften unbelebter Stoffe zu charakterisieren und zu verstehen. Das so erlangte Wissen erleichtert uns heutzutage den Entwurf neuer Maschinen oder Gebäude und ist ein Bestandteil des Physikstudiums.

Auch unser Körper ist eine „Maschine“, bei der es auf die Materialeigenschaften der Bauteile ankommt. Zellen und Gewebe müssen beispielsweise die Fähigkeit haben, selbstständig Kräfte zu erzeugen, die im Zusammenspiel mit ihren passiven Materialeigenschaften, etwa der Materialsteifigkeit, zu einer wohldefinierten Selbstverformung führen. Die Fähigkeit zur Selbstverformung entsteht vornehmlich durch intrinsische molekulare Kraftgeneratoren, die in vielen lebenden Materialien enthalten sind. Solche molekularen Motoren sind in der Lage, Energieträgermoleküle in der Zelle aufzuspalten und die so gewonnene chemische Energie in mechanische umzuwandeln. Das versetzt beispielsweise Polymere des Zellskeletts unter mechanische Spannung und lässt – auf größerer Skala – unsere Muskelfasern kontrahieren.

Die Fähigkeit zur kontrollierten Selbstdeformation ist eine wichtige Grundlage für die korrekte Funktion vieler Zellen in unserem Körper. So unterlaufen Zellen während der Zellteilung eine charakteristische Abfolge von Formveränderungen, die in der Abschnürung der Zelle in zwei Tochterzellen kulminiert. Das eindrucklichste Beispiel der Selbstdeformation von Geweben ist während der Embryogenese zu beobachten, wo nach konzertierten Wachstums- und Umformungsprozessen von Zellverbänden ein neuer Organismus entsteht.

Die quantitative Charakterisierung und das Verständnis der Materialeigenschaften lebender Materialien wie Zellen und Geweben ist ein wichtiges Ziel der biologischen und medizinischen Physik. Im Unterschied zu typischen unbe-

Schon seit einigen Jahren erforschen verschiedene Gruppen aus der Biophysik die zellmechanischen Veränderungen durch eine Krebserkrankung. Der sogenannte Aktinkortex spielt eine wichtige Rolle für die zelluläre Formgebung während der Zellteilung. Bestimmte durch Krebs verursachte Transformationen verändern die Aktinkortexmechanik in charakteristischer Weise. Die experimentelle Untersuchung solcher Veränderungen soll helfen, gezielte Therapien gegen Krebs zu entwickeln.

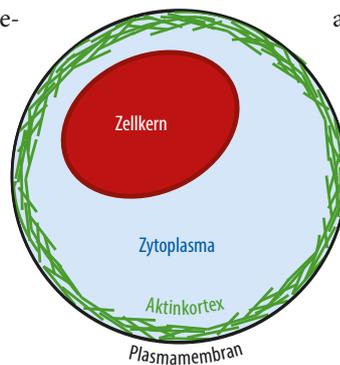
**D**ie Materialeigenschaften eines Bauteils sind wichtige Parameter für die Funktionalität einer Maschine. Diese Tatsache macht sich im Alltag bemerkbar, wenn wir das Material eines Bohrers auswählen, den Werkstoff für eine Dämmung oder den Härtegrad unserer Zahnbürste. Generationen von Physikern und Ingenieu-

lebten Materialien gibt es allerdings einige Besonderheiten, welche die Charakterisierung lebender Materialien zu einer spannenden Entdeckungsreise und zu einer nichttrivialen Herausforderung machen.

Lebende Materialien sind nicht im thermodynamischen Gleichgewicht, und ihre molekularen Komponenten unterliegen häufig einem ständigen Auf- und Abbau. Diese inhärente Dynamik macht Materialeigenschaften abhängig von der untersuchten Zeitskala und somit viskoelastisch – selbst wenn sich die molekulare Zusammensetzung im zeitlichen Mittel nicht ändert [1 – 3]. Ein typisches Verhalten ist beispielsweise das festkörperartige, elastische Verhalten auf kurzen Zeitskalen, das in ein viskoses Fließverhalten auf längeren Zeitskalen übergeht. In dieser Hinsicht ähneln die Materialeigenschaften einiger lebender Materialien denen von Gläsern [2, 4]. Aus dem Alltag ist dieses Verhalten etwa von „intelligenter Knete“ (Silly Putty) bekannt, die sich wie ein Flummi prallen lässt (kurze Zeitskala), aber auf langen Zeitskalen wie eine zähe Flüssigkeit fließt. In der Zelle finden sich diese Materialeigenschaften unter anderem beim Aktinzellskelett [4].

Weiterhin weisen lebende Materialien häufig aktive mechanische (Vor-)Spannungen auf, die auf die Aktivität intrinsischer molekularer Kraftgeneratoren zurückgehen. Dieses Phänomen wird zum Beispiel evident, wenn unsere Haut bei einer Verletzung mit einer Platzwunde aufklafft, was die aktive mechanische Spannung in dieser Gewebeschicht anzeigt. Die kontinuumsmechanische Beschreibung von lebendem Material muss diese aktive Spannung berücksichtigen.

Ein weiteres Merkmal lebender Materie ist, dass sie biochemischen Signalen und biologischen Zyklen unterworfen ist, etwa dem Zellzyklus. Dieser bezeichnet die Abfolge verschiedener Phasen im Leben einer Zelle. Er umfasst unter



**Abb. 1** Das Bild zeigt schematisch eine tierische Zelle. Der Aktinkortex ist eine Struktur des Zellskeletts.

anderem die Duplizierung der DNA und final die Abschnürung und Teilung der Zelle. Damit ist lebende Materie typischerweise dynamisch, sowohl in ihrem molekularen Aufbau als auch in ihrer Struktur und äußeren Form.

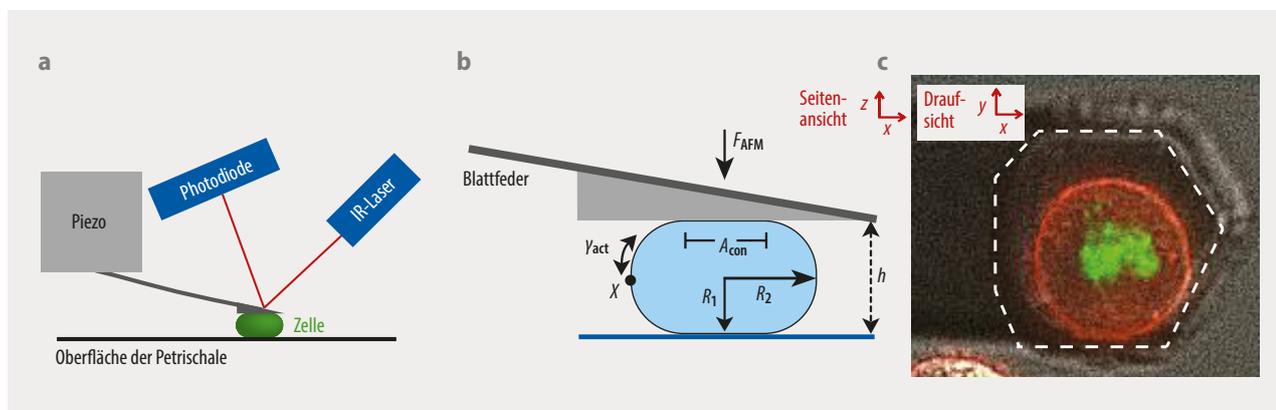
## Die Zelle als mechanisches Gebilde

Zellen sind die kleinsten lebenden Einheiten unseres Körpers. Je nach Spezialisierung einer Zelle variieren ihre Größe, Form und Zusammensetzung. Humane Zellen sind typischerweise 10 bis 20  $\mu\text{m}$  groß. In mechanischer Hinsicht besteht eine Zelle aus einem viskosen Inneren (Zytoplasma), das eine spezialisierte Lipid-

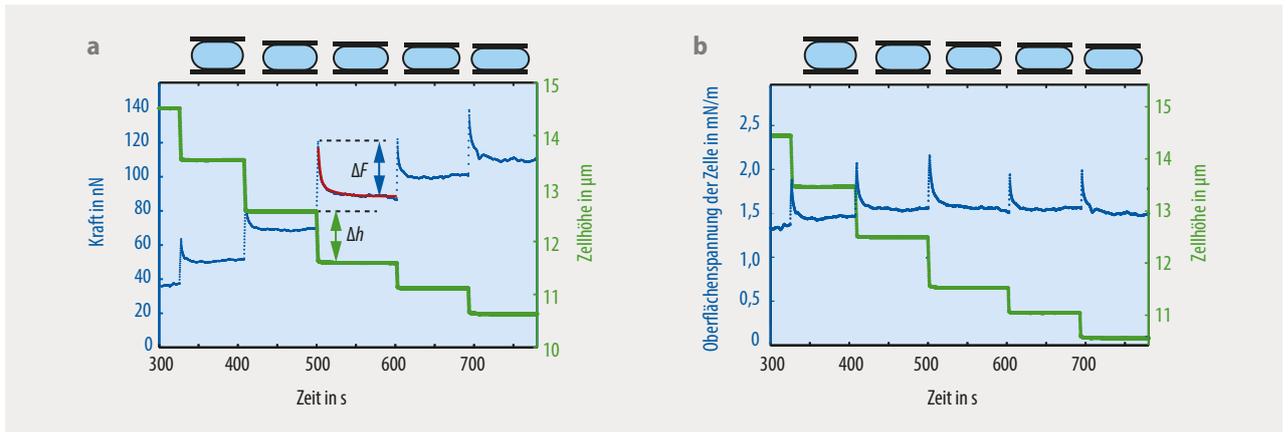
membran nach außen hin abgrenzt, die Plasmamembran (**Abb. 1**) [5]. Mechanische Stabilität erhält die Zelle durch das Zellskelett – das ist ein Netzwerk aus dynamischen Biopolymeren, das die Zelle wie ein Gerüst aufspannt und das Kräfte erzeugen und so die Zelle in eine bestimmte Form bringen kann. Eine Vielzahl von Proteinen und Lipiden in der Zelle reguliert die Polymerisationsdynamik, die Vernetzung der Biopolymere untereinander und erzeugt Kräfte durch molekulare Motoren [5 – 7]. Das größte Zellorganell ist der Zellkern, den eine Kernhülle schützt und der besondere mechanische Eigenschaften besitzt [5].

## Schutzhülle und Formgeber der Zelle

Aktinfilamente sind lineare Polymere, die durch die Zusammenlagerung von intrazellulären Aktinproteinen in der Zelle entstehen. Sie bilden in der Zelle eine dünne vernetzte Polymerschicht an der Innenseite der Plasmamembran – den Aktinkortex. Dieser ist mit der Plasmamembran verbunden und stützt sie mechanisch. Spezielle Motorproteine (Myosine) binden an den Aktinkortex und setzen ihn unter kontraktile Spannung. Die aktive mechanische Spannung



**Abb. 2** Das Sandwichverfahren dient dazu, die zelluläre Oberflächenspannung tierischer Zellen und die viskoelastischen Materialeigenschaften des Aktinkortex zu messen (a) [4, 8, 9]. Mithilfe eines Rasterkraftmikroskops wird eine zunächst runde nicht-adhärenente Zelle (blau) zwischen zwei parallelen Platten zusammengedrückt (Seitenansicht in b). Im Schema bezeichnen  $F_{AFM}$ ,  $h$ ,  $R_1$  und  $R_2$  die gemessene Kraft, die Zellhöhe bzw. die Hauptkrümmungsradien am Äquator der Zelle. Weiterhin bezeichnen  $A_{con}$  und  $\gamma_{act}$  die Kontaktfläche und die aktive kortikale Spannung der Zelle. Das Mikroskopiebild (c) zeigt eine zusammengedrückte Zelle von oben (Durchlicht und Fluoreszenz, rote Fluoreszenz: Zellmembran, mCherry-CAAX, grüne Fluoreszenz: DNA, EGFP-H2B). Die gestrichelte Linie zeigt den Umriss des Keils der Blattfeder.



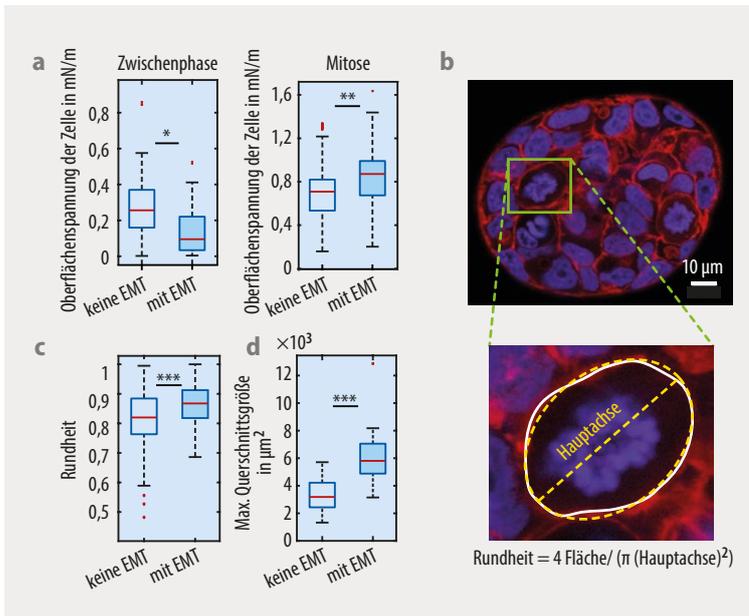
**Abb. 3** Im Rasterkraftmikroskopie-basierten Sandwichverfahren nimmt die Zellhöhe unter der Blattfeder sukzessive durch das Zusammen-drücken ab (a, grün), die zugehörige Kraftantwort der Zelle (a, blau) beruht auf dem Verformungswiderstand der Zelle. Die rote Kurve zeigt die theoretische Vorhersage der viskoelastischen Kraftrelaxation der kortikalen Spannung [4]. Die zugehörige zeitlich veränderliche mechanische Spannung im Aktinkortex der Zelle (b) lässt sich durch Fitten eines physikalischen Modells abschätzen (blau). Bemerkenswert ist, dass sich die Oberflächenspannung der Zelle nach einer kurzen Relaxationszeit auf einen nahezu konstanten, von der Zellhöhe unabhän-gigen Wert einpendelt. Dieses Verhalten ähnelt dem eines Tropfens und unterscheidet sich deutlich von dem einer flüssigkeitsgefüllten elastischen Hülle, bei der die Spannung durch sukzessive Aufspreizung weiter ansteigen würde.

im Aktinkortex und somit an der Zellperipherie lässt sich effektiv als Oberflächenspannung der Zelle beschreiben. Die Zelle kann diese aktiv regulierte Oberflächenspannung für Formveränderungen einsetzen. Insbesondere nimmt die Zelle bei uniformer Oberflächenspannung und in Abwesenheit von Adhäsion oder externen Kräften eine runde Form an. Der Aktinkortex ist somit Schutzhülle und Formgeber zugleich [5, 7].

In Zusammenarbeit mit meinem Team habe ich eine neue Technik entwickelt, die auf Rasterkraftmikroskopie basiert und die sowohl die aktive kortikale Spannung als auch die zeitskalenabhängigen mechanischen Eigenschaften des Zellkortex in lebenden Zellen auslesen kann (Abb. 2). Diesem Messverfahren liegt die Idee zugrunde, dass eine zunächst kugelförmige Zelle beim Zusammendrücken zwischen zwei parallelen Platten ihre Gesamtoberfläche ver-

größern muss – vorausgesetzt, ihr Gesamtvolumen bleibt konstant. Die Kugelform stellt bei vorgegebenem Volumen eine Form mit minimaler Oberfläche dar, sodass die mechanisch erzwungene Deformation notwendigerweise die Zelloberfläche vergrößert. Daher wird beim Zusammendrücken einer runden Zelle der Aktinkortex aufgespreizt.

Bei diesem Sandwichverfahren dient die Blattfeder eines Rasterkraftmikroskops dazu, eine Zelle zusammenzudrücken, die auf der Glasoberfläche einer Petrischale sitzt (Abb. 2). Die Kraftantwort der Zelle wird als Teil der Datenausgabe des Rasterkraftmikroskops über die (minimale) Auslenkung der Blattfeder ausgelesen (Abb. 2a und Abb. 3a). Gleichzeitig zeichnet die Kamera eines invertierten Lichtmikroskops, auf welchem die Petrischale und das Rasterkraftmikroskop montiert sind, die Größe der Zelle auf. Mit Hilfe des Laplace-Gesetzes leitet sich folgende Formel ab [8]:



**Abb. 4** Mit dem Sandwichverfahren ließ sich die Zelloberflächen-spannung von einzelnen Krebszellen messen (a). In der Zellteilungsphase (rechts) ist die Oberflächenspannung von durch EMT veränderten Zellen höher als bei Krebszellen ohne EMT. In der Zwischenphase ist es umgekehrt. Das Fluoreszenz-Mikroskopiebild (b) zeigt einen Tumorsphäroid aus Brustkrebszellen (Zelllinie MCF-7) eingebettet in einen elastischen Hydrogel (nicht sichtbar). Die Zellen wurden chemisch fixiert und angefärbt (DNA in violett, Aktin in rot). Die Vergrößerung unten zeigt eine mitotische Zelle mit kondensierter DNA. Die Form ihres Querschnitts (weiß) wird mit einer Ellipse gefittet und damit die Rundheit berechnet. Mitotische Krebszellen, die durch EMT verändert sind, sind runder als diejenigen ohne EMT (c). Die Querschnittsgröße des Sphäroids (d) in Krebszellen ist mit EMT größer als ohne. Die Anzahl der Sternchen gibt die statistische Signifikanz im Mann-Whitney-Test an: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

$$\gamma = \frac{F_{\text{AFM}}}{2HA_{\text{con}}}.$$

Diese erlaubt es, die zelluläre Oberflächenspannung  $\gamma$  mithilfe der gemessenen Kraft bei der Rasterkraftmikroskopie  $F_{\text{AFM}}$ , der Kontaktfläche zwischen Zelle und Blattfeder  $A_{\text{con}}$  und der mittleren Krümmung

$$H = \frac{1}{2} \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)$$

der frei stehenden Zelloberfläche abzuschätzen (**Abb. 2b** und **Abb. 3b**).

## Veränderung des Aktinkortex durch Krebs

Krebs bezeichnet im medizinischen Zusammenhang die unkontrollierte Vermehrung von Zellen und die damit einhergehende Bildung von Geschwulsten. Seit einigen Jahren forschen verschiedene Biophysikgruppen daran, die zellmechanischen Veränderungen von Krebszellen zu charakterisieren [10 – 12].

In meiner Arbeitsgruppe nehmen wir mechanische Veränderungen des Aktinkortex während der Zellteilung in den Fokus, da dieser eine wichtige Rolle für die zelluläre Formgebung spielt. Insbesondere haben wir uns auf kortikale Veränderungen durch eine bestimmte krebsassoziierte Zelltransformation fokussiert – die Epithelial-Mesenchymale Transition (EMT). Bei dieser zellulären Transformation verlieren Zellen des Deckgewebes – das ist ein flächiger Zellverband, der die Oberfläche von Organen oder inneren Hohlräumen auskleidet – ihre feste Einbettung in die Deckgewebsschicht. Stattdessen zeigen sie charakteristische Veränderungen in der Zellorganisation und in der Menge und Art der enthaltenen Proteine [13].

Diese zelluläre Transformation wurde in der Vergangenheit mit dem Fortschreiten von Krebs in Zusammenhang gebracht. Mithilfe des oben beschriebenen Sandwichverfahrens konnten wir feststellen, dass die Epithelial-Mesenchymale Transition charakteristische Veränderungen der Aktinkortexmechanik auslöst (**Abb. 4a**). Insbesondere steigt die zelluläre Oberflächenspannung in der Mitose an, also während der Zellteilung [14]. Um zu überprüfen, ob diese zellmechanische Veränderung eine Rolle für die zelluläre Form während der Zellteilung spielt, haben wir Zellaggregate (Tumorsphäroide) in elastischen Hydrogelen wachsen lassen (**Abb. 4b**) [14]. Die Experimente belegten, dass mitotische Zellen in eingebetteten Tumorsphäroiden nach einer Epithelial-Mesenchymalen Transition in der Tat runder sind. Gleichzeitig zeigte sich, dass transformierte Sphäroide stärker wachsen (**Abb. 4c, d**) [14]. Diese Experimente legen also nahe, dass Veränderungen in der zellulären Oberflächenspannung die Häufigkeit der Zellteilung direkt beeinflussen könnten.

Die weiterführende Charakterisierung des Zusammenhangs zwischen Zellmechanik, Zellform und Tumorstadium wird unsere Arbeitsgruppe auch in den nächsten Jahren weiter beschäftigen. Zukünftige Herausforderungen bestehen beispielsweise darin, die molekularen Verände-

rungen im Kortex und in den zellulären Signalwegen zu identifizieren, welche für die gemessenen zellmechanischen Veränderungen zuständig sind. Darüber hinaus möchten wir den Mechanismus aufdecken, durch den zelluläre Oberflächenspannung das Fortschreiten des Zellzyklus und somit die Zellproliferation beeinflusst. Wir hoffen, dass unsere Erkenntnisse dazu beitragen können, neue therapeutische Ansätze für Krebserkrankungen aufzuzeigen.

\*

Ich danke meinen Kolleg:innen und Mitarbeitenden für unsere produktive Zusammenarbeit und inspirierende Gespräche sowie der DFG für ihre finanzielle Unterstützung.

## Literatur

- [1] P. A. Pullarkat, P. A. Fernández und A. Ott, Phys. Rep. **449**, 29 (2007)
- [2] P. Kollmannsberger und B. Fabry, Annu. Rev. Mater. Res. **41**, 75 (2011)
- [3] A. Bonfanti et al., R. Soc. Open Sci. **7**, 190920 (2020)
- [4] E. Fischer-Friedrich et al., Biophys. J. **111**, 589 (2016)
- [5] B. Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, W. W. Norton & Co Inc., New York (2022)
- [6] G. H. Koenderink und E. K. Paluch, Curr. Opin. Cell Biol. **50**, 79 (2018)
- [7] G. Salbreux, G. Charras und E. Paluch, Trends Cell Biol. **22**, 536 (2012)
- [8] E. Fischer-Friedrich et al., Sci. Rep. **4** (2014)
- [9] K. Hosseini, A. Frenzel und E. Fischer-Friedrich, Biophys. J. **120**, 3516 (2021)
- [10] H. K. Matthews et al., Dev. Cell. **52**, 563 e3 (2020)
- [11] F. Wottawah et al., Phys. Rev. Lett. **94**, 098103 (2005)
- [12] J. Rother et al., Open Biol. **4**, 140046 (2014)
- [13] J. Yang et al., Nat. Rev. Mol. Cell Biol. **21**, 341 (2020)
- [14] K. Hosseini et al., Adv. Sci. **7**, 2001276 (2020)

## Die Autorin



**Dr. Elisabeth Fischer-Friedrich** studierte Physik in Leipzig und Edinburgh. Für ihre Doktorarbeit am Max-Planck-Institut für Physik komplexer Systeme in Dresden und der Universität des Saarlandes in der biologischen Physik wurde sie mit der Otto-Hahn-Medaille der Max-Planck-Gesellschaft ausgezeichnet. Nach Postdoc-Stationen

am Weizmann Institut in Israel und in Dresden arbeitet sie seit 2019 als Forschungsgruppenleiterin am Exzellenzcluster Physik des Lebens an der TU Dresden. Ihr Team untersucht die mechanischen Eigenschaften lebender Materie, insbesondere der von lebenden Zellen, wofür es quantitative Messmethoden sowie mathematische Modellierung entwickelt. Ihre Forschungsarbeit wurde 2022 durch die DFG zur Förderung im Heisenberg-Programm vorgeschlagen. Elisabeth Fischer-Friedrich lebt mit ihrem Ehemann und drei Kindern in Dresden.

**Dr. habil. Elisabeth Fischer-Friedrich**, Technische Universität Dresden, Exzellenzcluster ‚Physik des Lebens‘, Arnoldstraße 18, 01307 Dresden