

### **(3) Trabekelstruktur**

Strukturbestimmung: (Mikro-)Tomographie

**Mechanik:** Rechnungen / Modellierung mit **finiten Elementen**

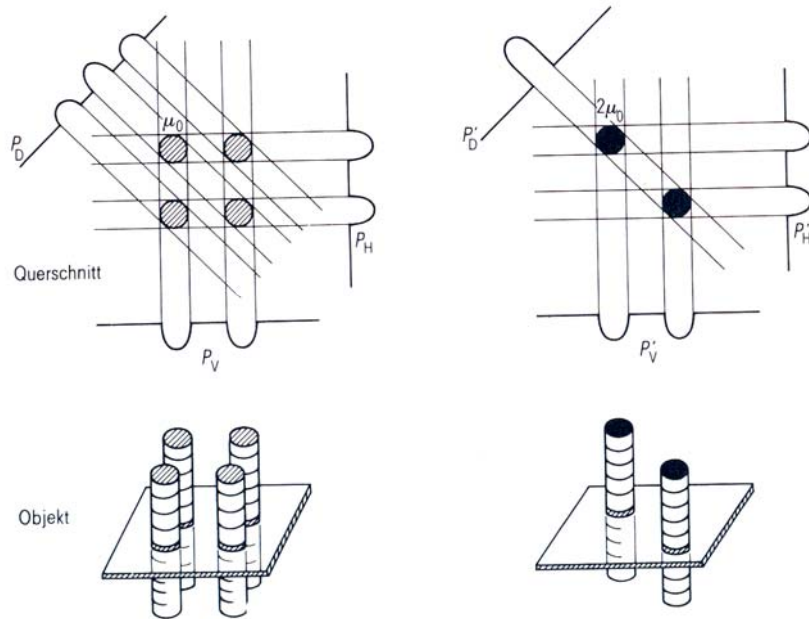
⇒ Hauptergebnis: Verteilung von Kompression auf Kompression und Dehnung!

## M5: Tomographie

### Prinzip:

Absorptionsaufnahmen unter verschiedenen Winkel, daraus Rekonstruktion

### Mehrdeutigkeit:



### Iterative Bildrekonstruktion:

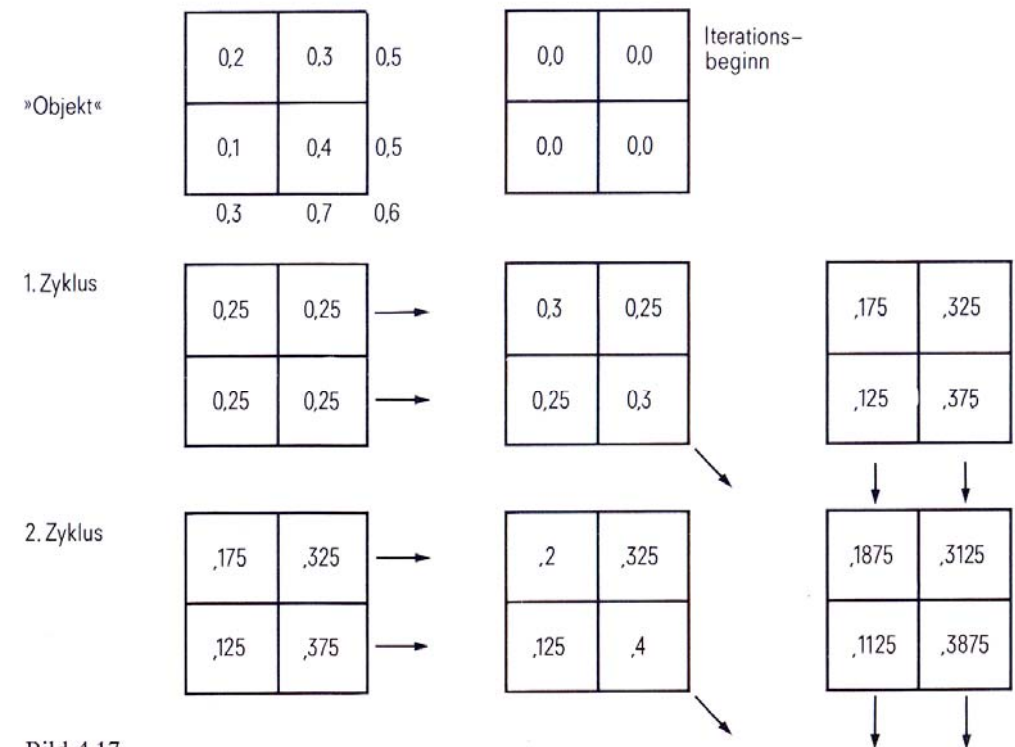


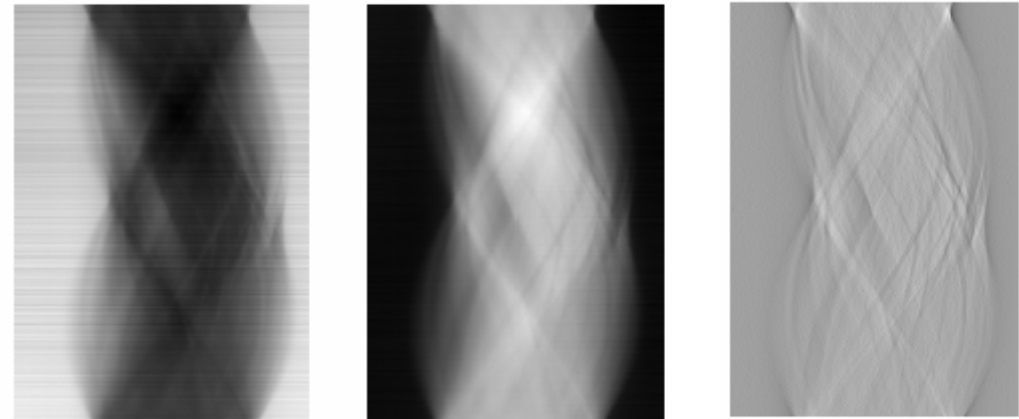
Bild 4.17

Iterative Bildrekonstruktion anhand eines einfachen Beispiels

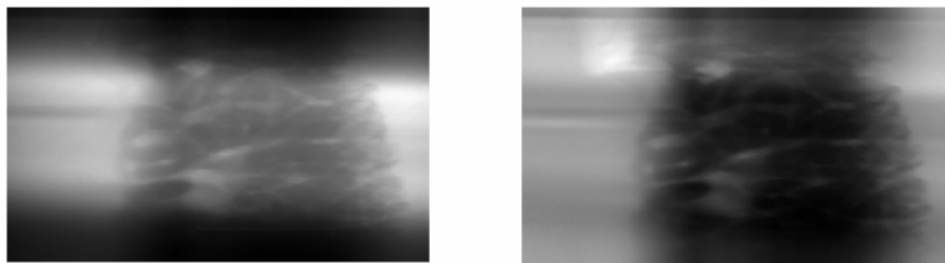


Sinogramm: jeweils eine Zeile

↑ Winkel

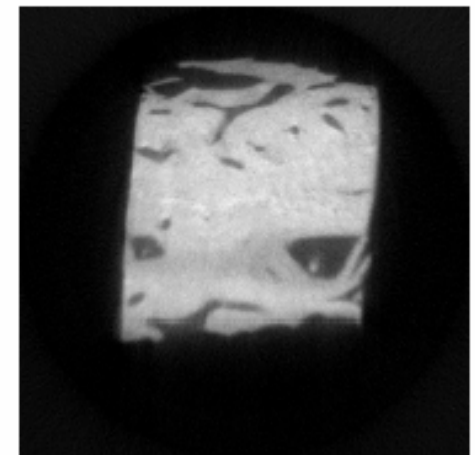


Bilder (original, korrigiert)

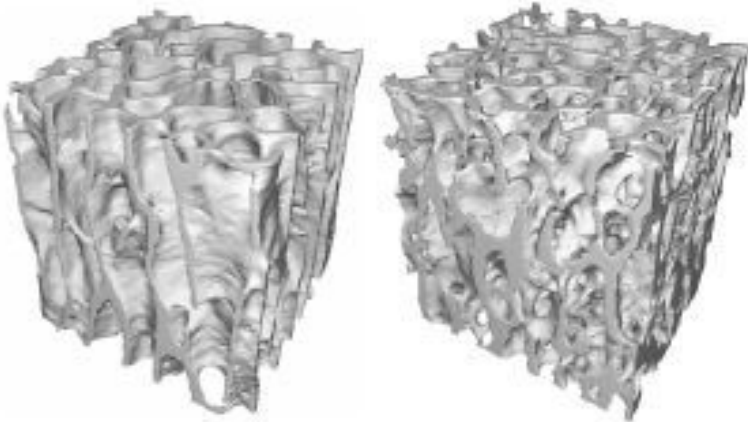
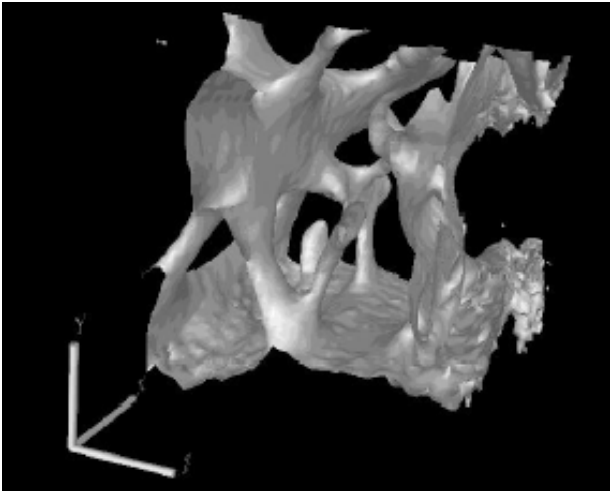


(bei einem Winkel)

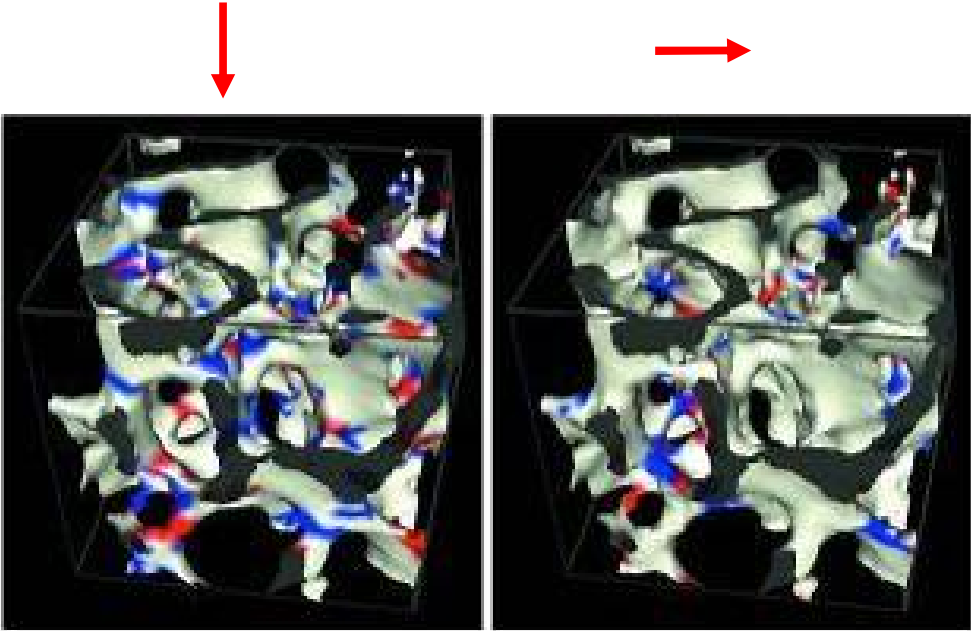
Rekonstruktion



3D-Struktur



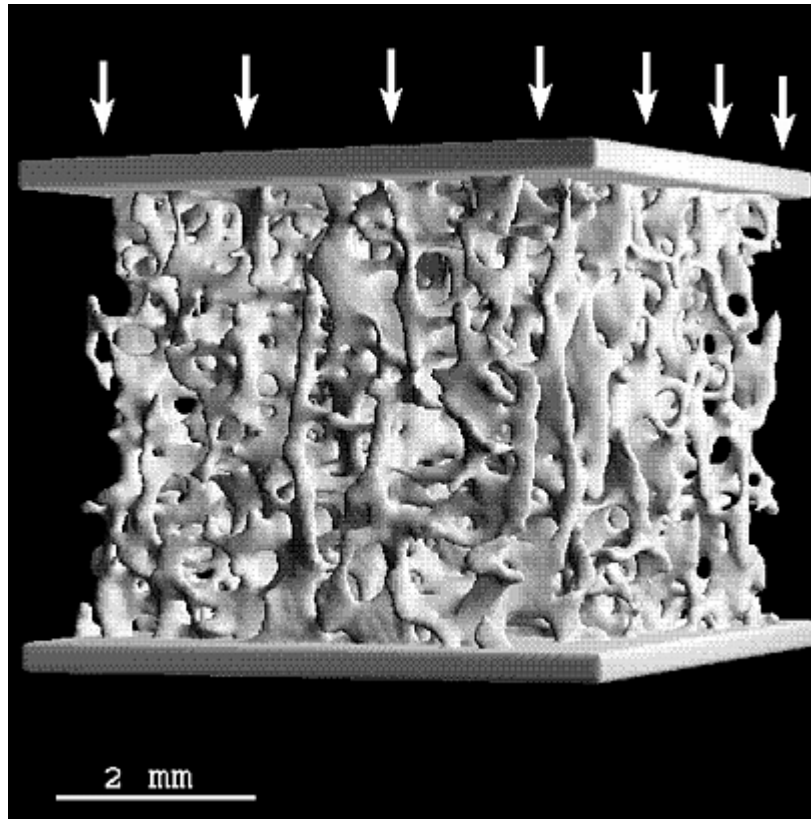
Knochen unter **Kompression**



**Kompression**

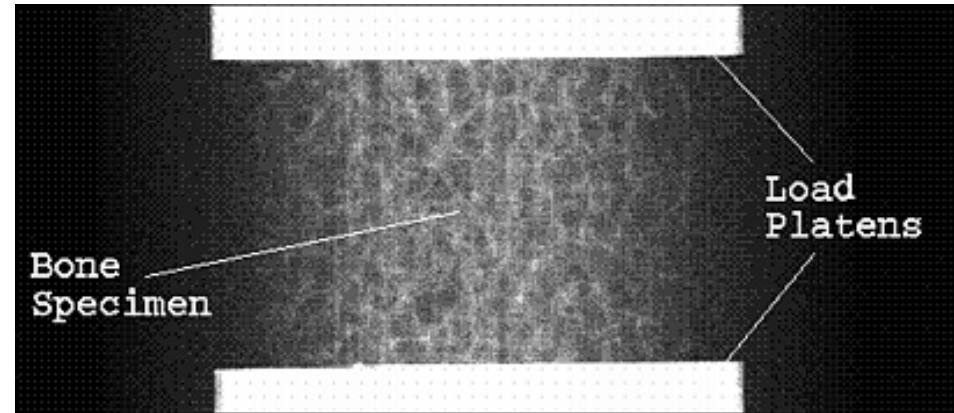
Dehnung 50% / 67 %

# In situ Deformation von (Wal-)Knochen

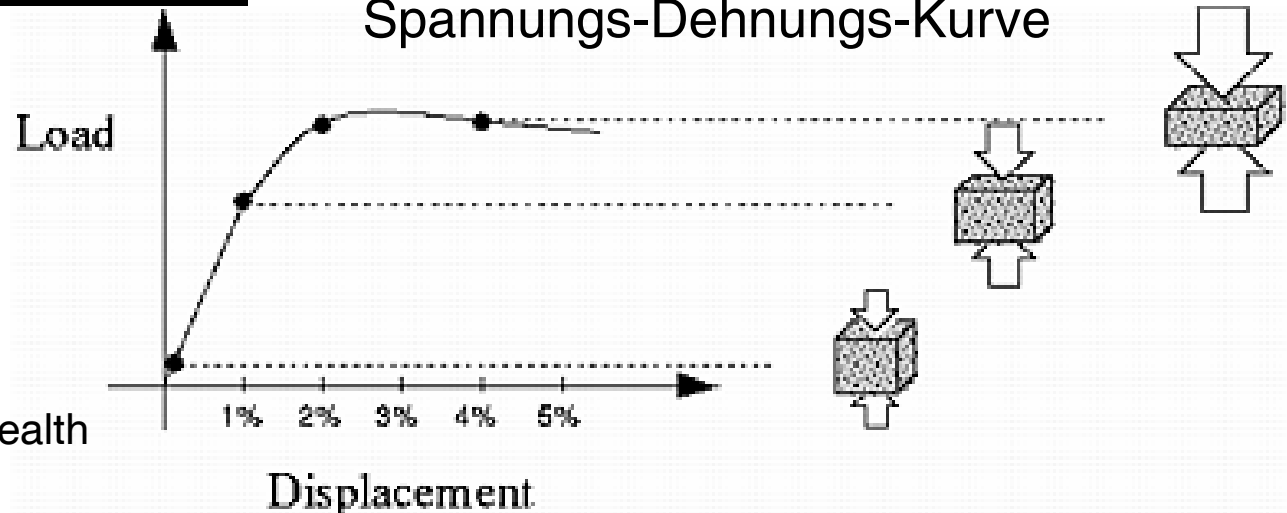


3D-Rekonstruktion

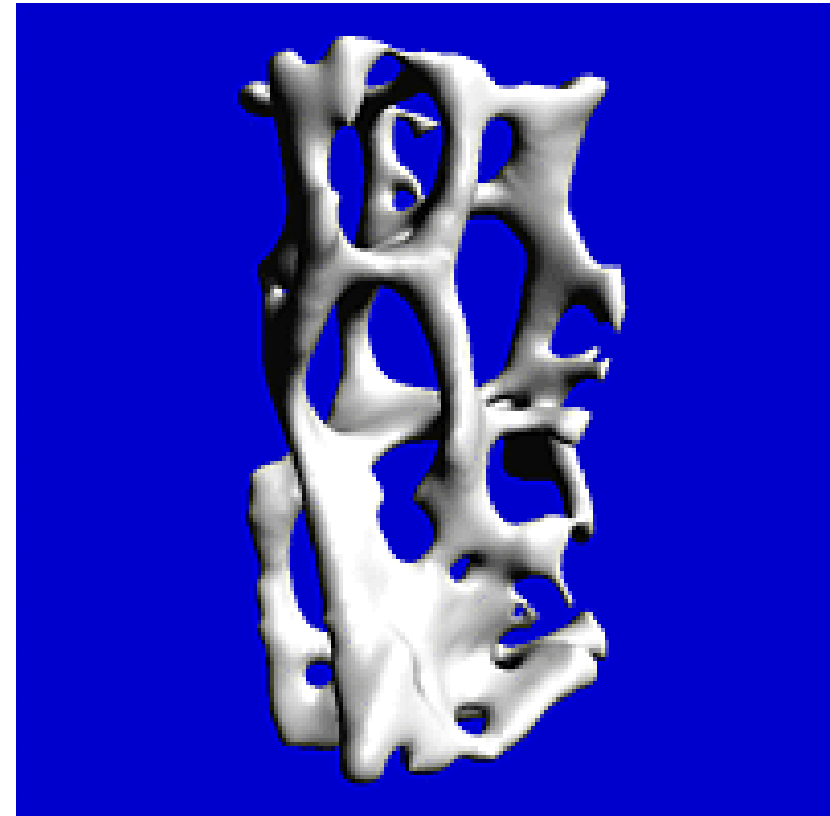
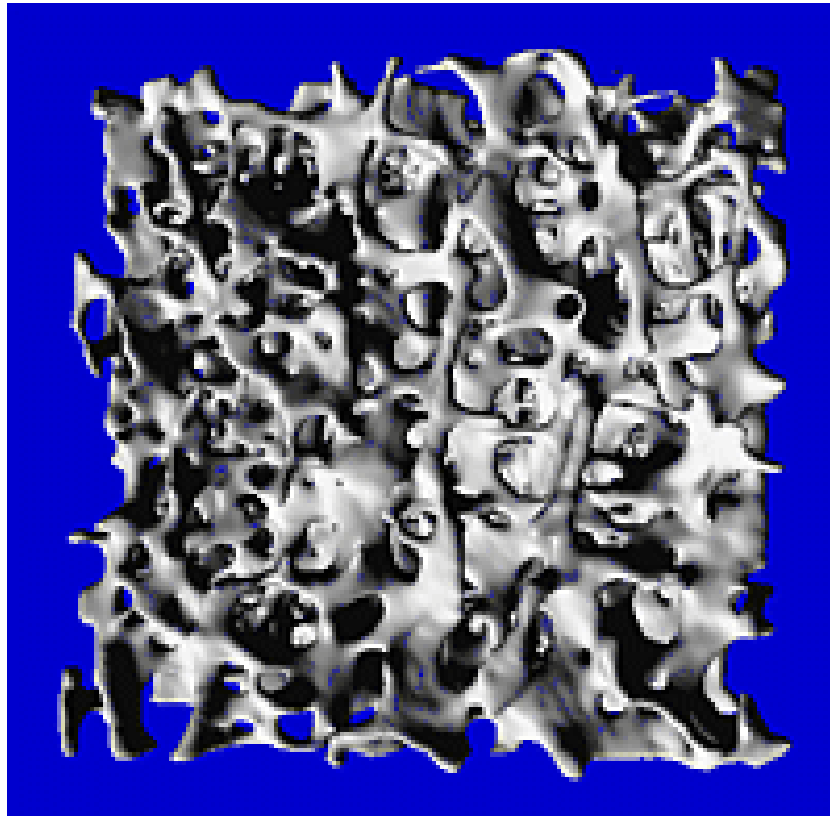
Absorption



Spannungs-Dehnungs-Kurve



R. Müller *et al.*, *Technology and Health Care* 6, 433-444 (1998)



Kompression von 1 %, 2 % und 4 %

lokale Information über mechanisches Versagen (Streckgrenze: 2 %)

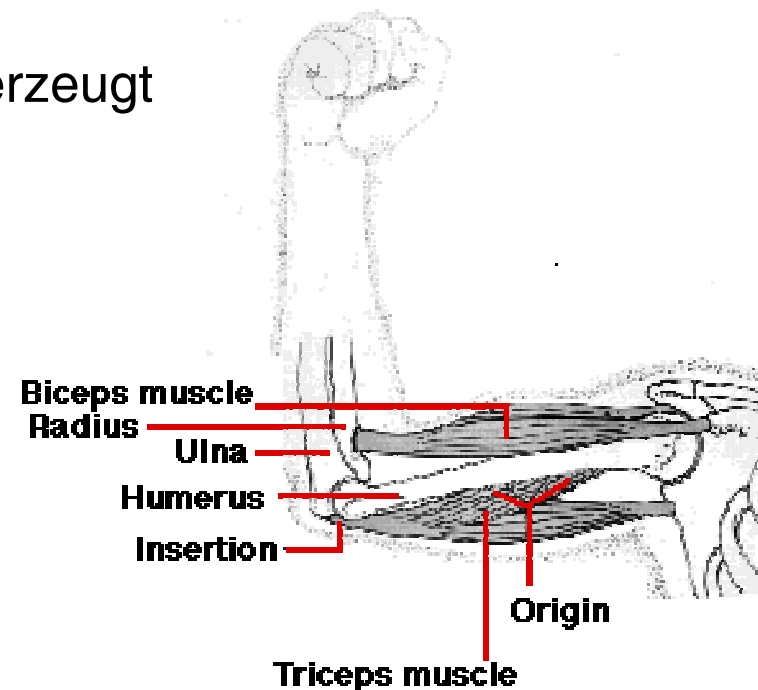
### 3. Aktive Biomaterialien: Muskeln als biologische Motoren

#### 3.1 Struktur von Muskeln

drei Arten von Muskeln in Wirbeltieren:

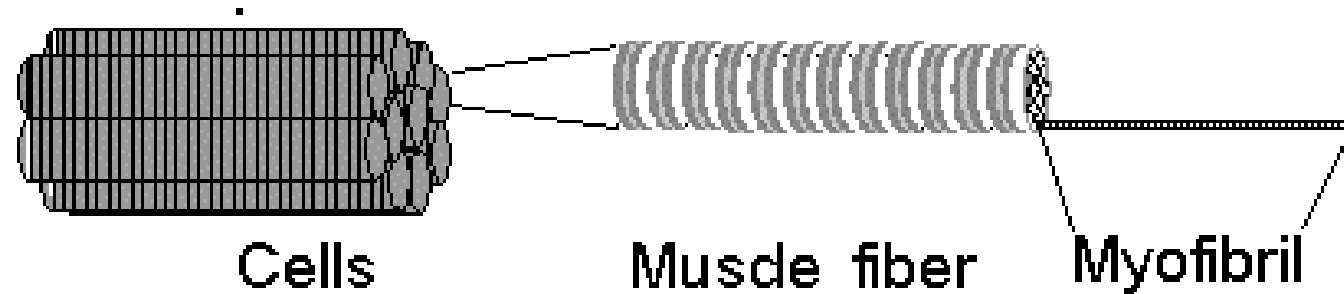
- **Herzmuskel** (autonom vom Nervensystem)
- **glatter Muskel** (unwillkürlich arbeitend, in Organen)
- **quergestreifter Muskel** (willkürlich zu bewegen)

Kraft wird nur bei Kontraktion erzeugt  
⇒ Antagonisten



**Muskelfasern:**

- Länge 3 cm (30 cm bis 1 mm; gesamte Muskellänge!)
- Durchmesser 10-100  $\mu\text{m}$

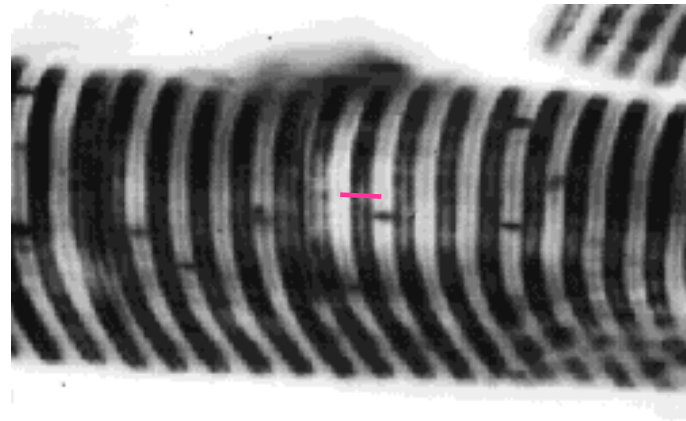


**Myofibrillen** (1 bis 2  $\mu\text{m}$  Durchmesser);  
viele Zellkerne (Fusion von Zellen)

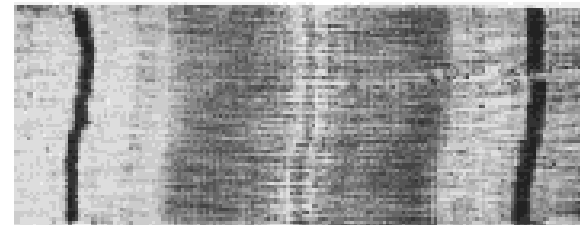
im Mikroskop: **Streifenstruktur** ( $\Rightarrow$  Name!)



Unterstruktur: **Sarkomer** (2.5  $\mu\text{m}$  lang)



Sarkomer



EM-Bild (H. E. Huxley)

Z-Linie



H-Zone



I-Band

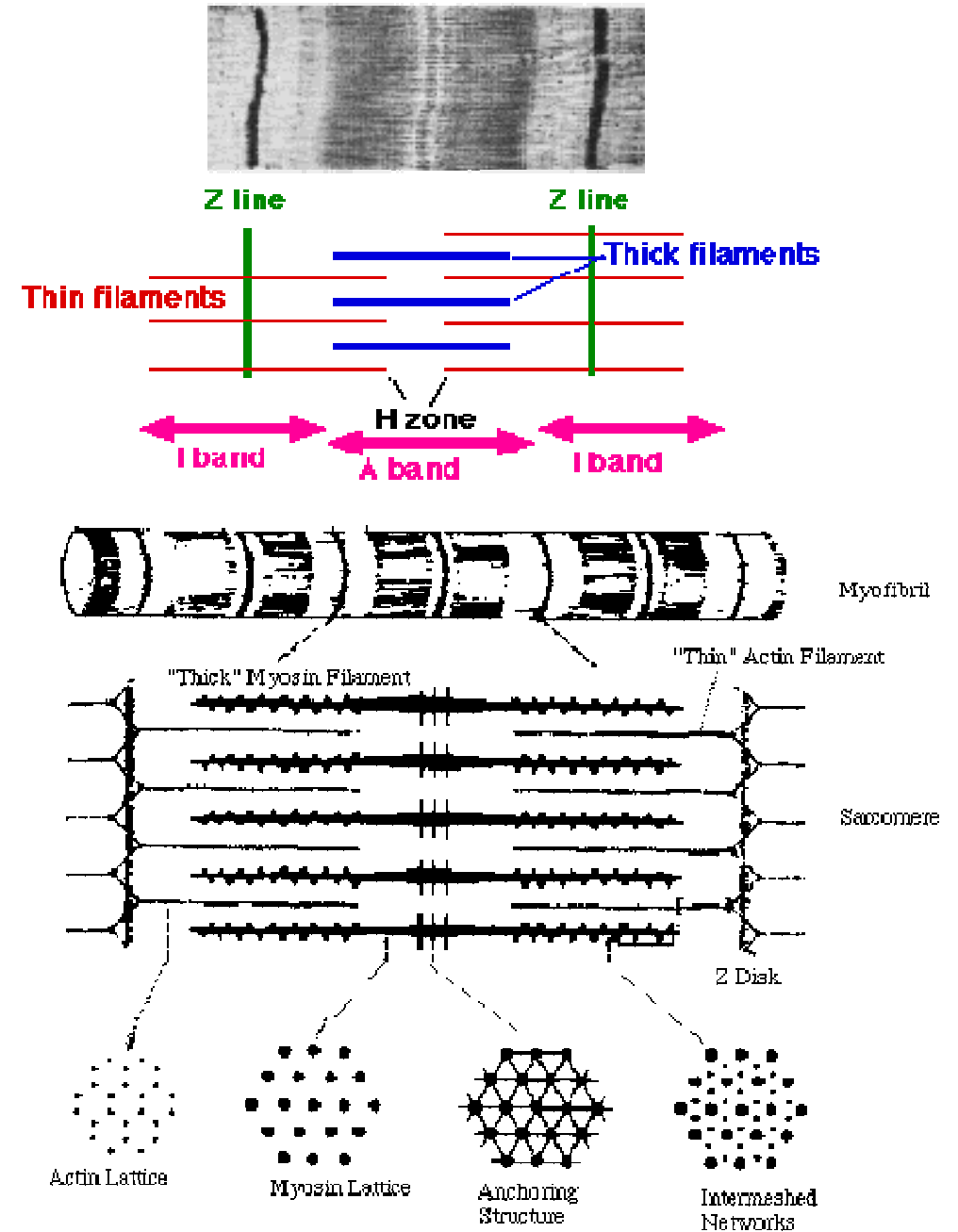


A-Band

## Molekulare Struktur

dicke Filamente = **Myosin**

dünne Filamente = **Actin**



lateral: regelmäßige  
hexagonale Struktur

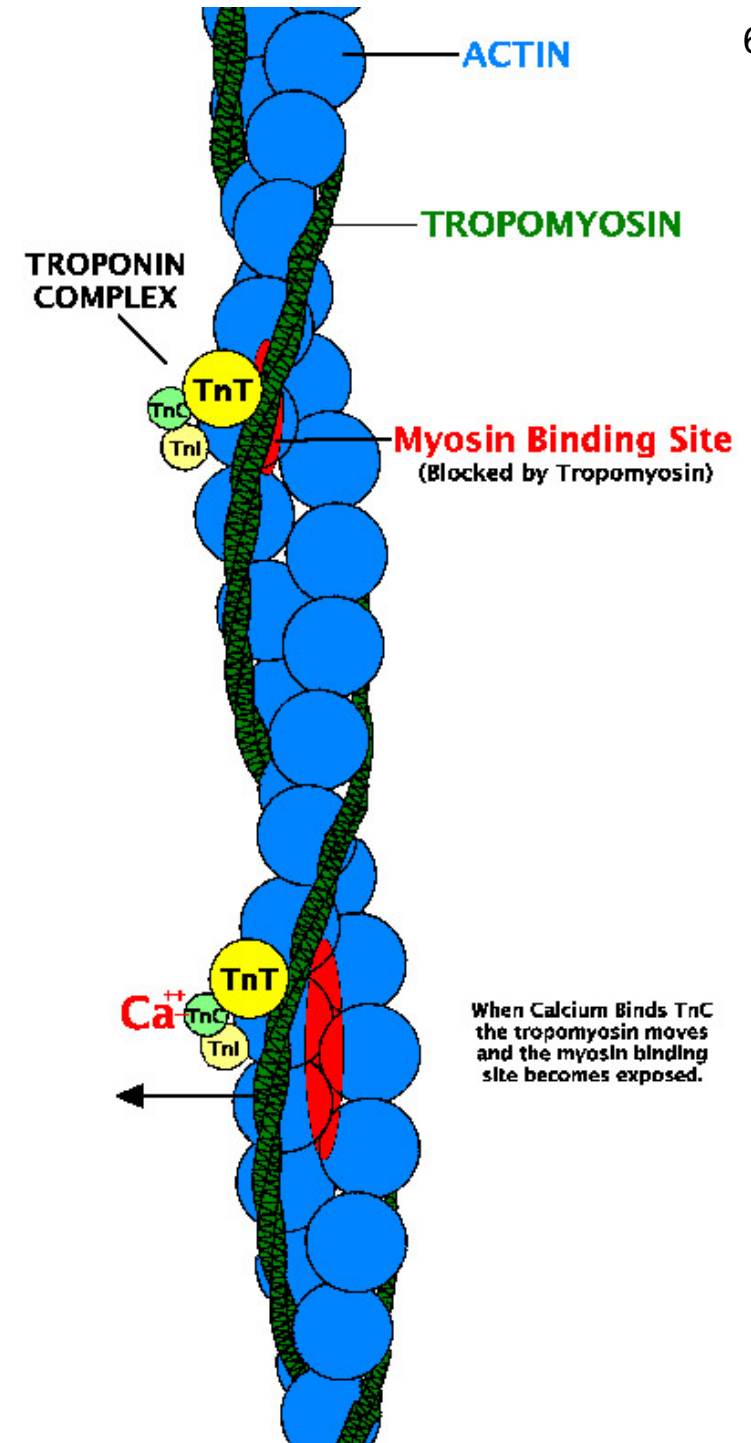
## Actin (dünnes Filament)

globulares Protein, 46 kDa (Actin G)

Zusammenlagerung zu Doppel-Helix,  
14 MDa (Actin F)

Durchmesser 7 – 8 nm

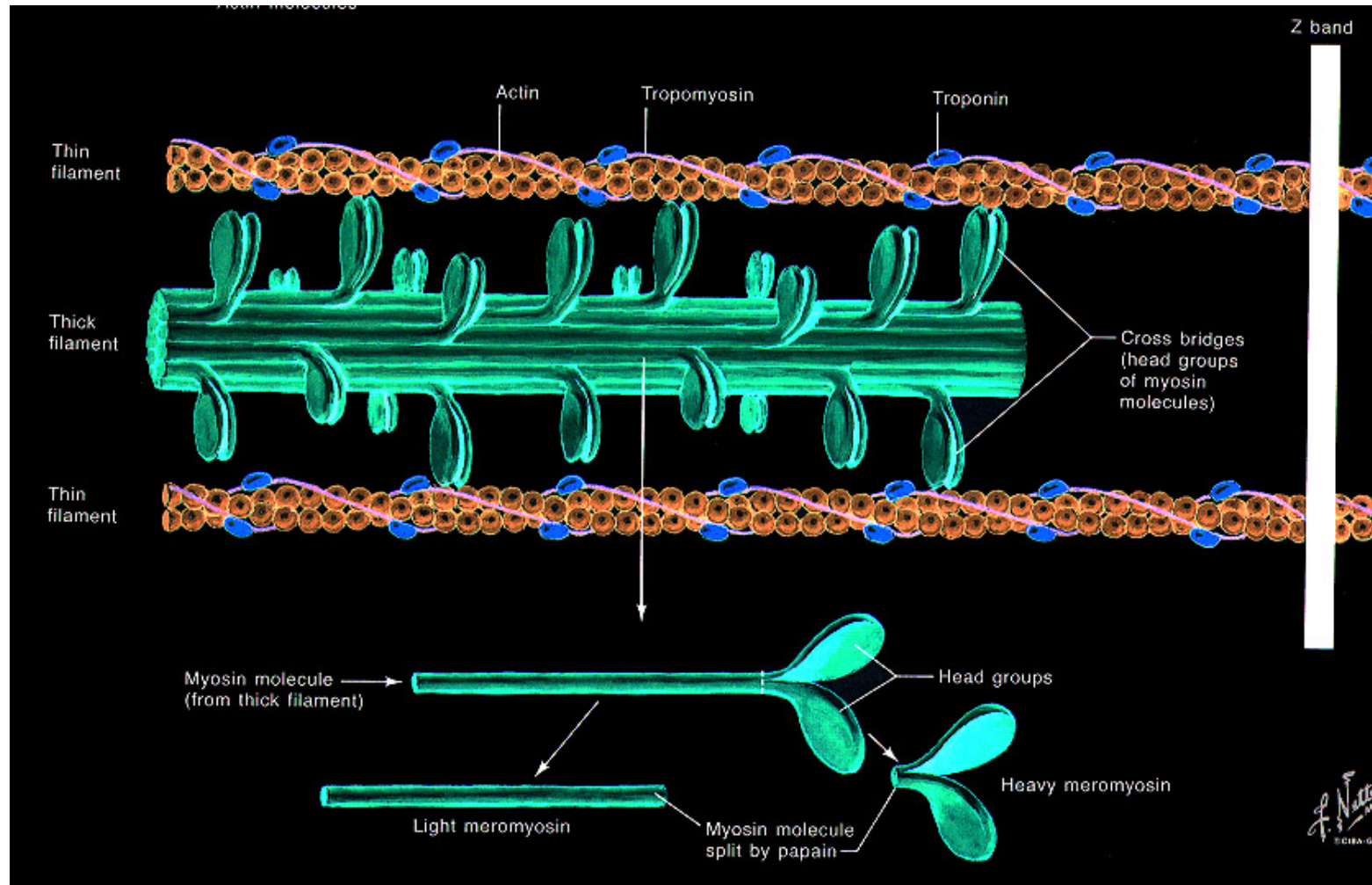
2. Kette aus Tropomyosin: blockiert  
Stellen, an denen Myosin ( $\Rightarrow$ ) binden  
kann



## Myosin (dickes Filament)

Protein, 520 kDa, aus Kette (150 nm lang) und Kopf (13 nm)

Bündel formen Filament

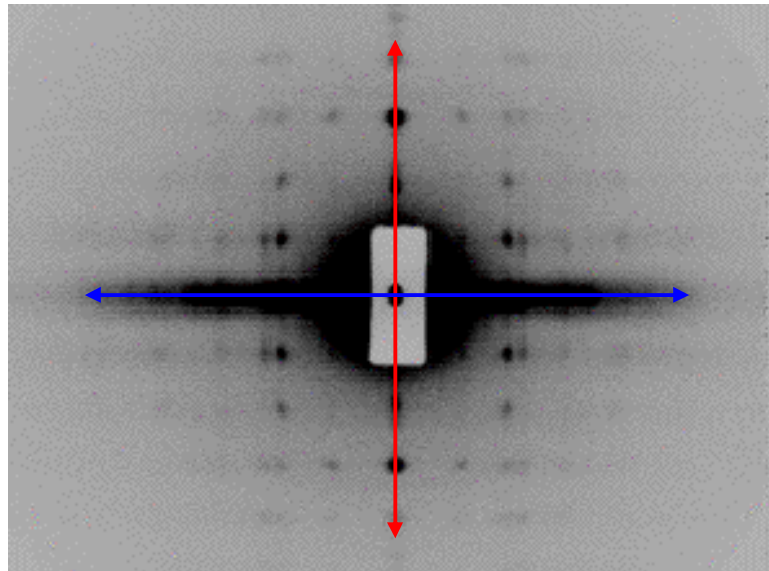


## Strukturuntersuchungen mit Röntgenstremethoden

typische Abstände mesoskopisch (10 ... 100 nm)  $\Rightarrow$  **Kleinwinkelstreuung**

regelmäßige Anordnung  $\Rightarrow$  Bragg-Reflexe bei kleinen Winkeln

besonders gute dreidimensionale Ordnung in z. B. Knochenfischmuskeln  
 $\Rightarrow$  scharfe Reflexe auf **Meridian** (Ordnung entlang Filamenten)  
und **Äquator** (laterale Ordnung, hexagonales Gitter)

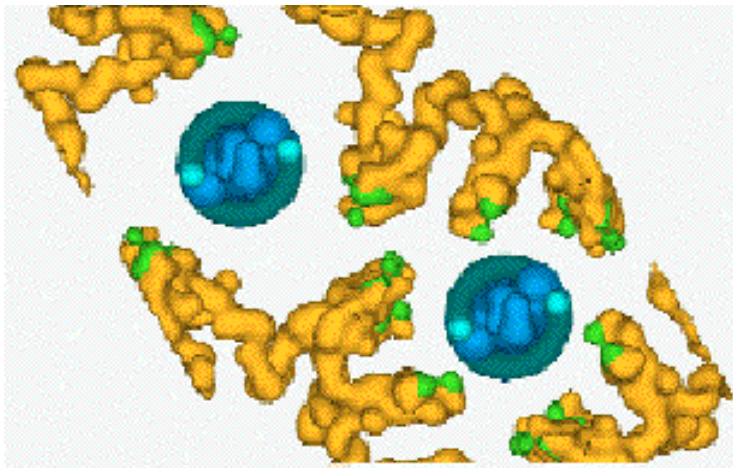


aus Intensitäten Strukturmodell mit  
moderater Auflösung

einfaches Modell des **Myosin-  
Kopfes**, der an Actin binden kann

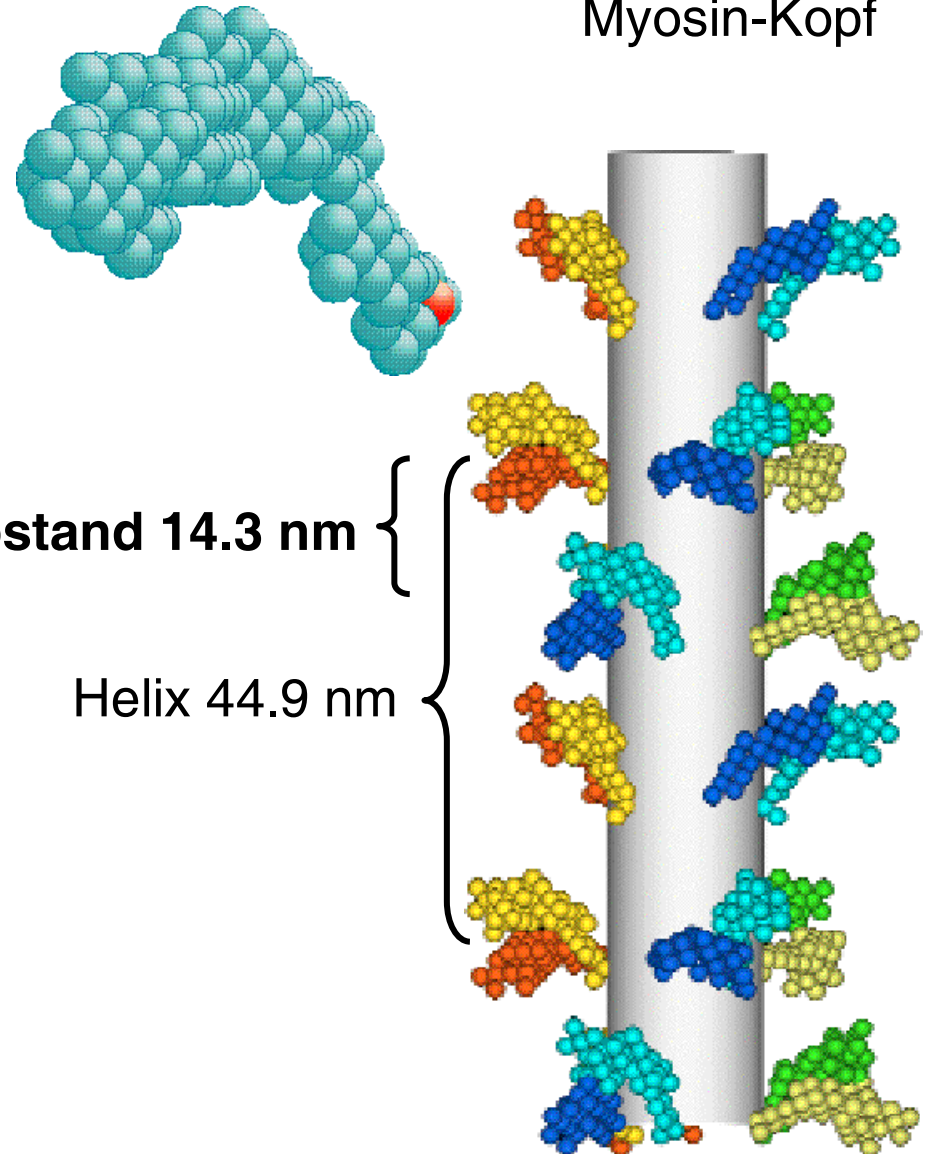
selbe Auflösung für alle Moleküle in  
der (großen!) Einheitszelle

Einheitszelle



47 nm

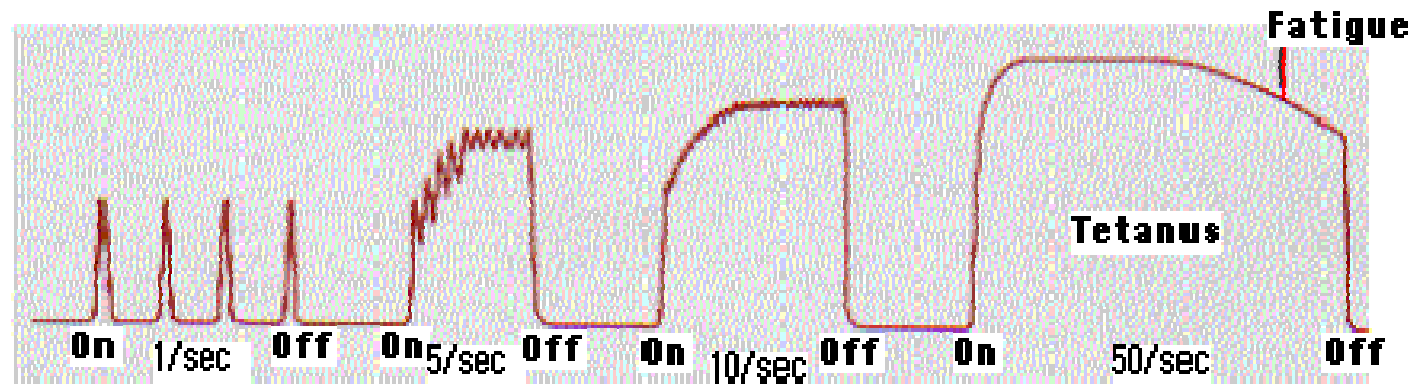
59 Kugeln mit 0.715 nm Radius:  
Myosin-Kopf



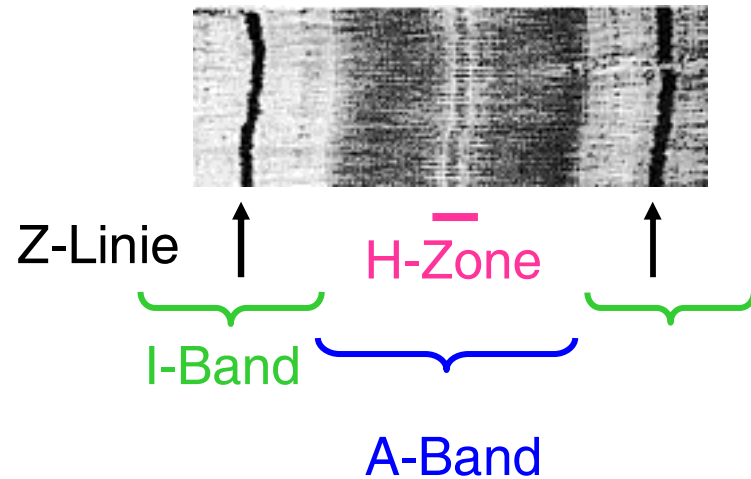
## 3.2 Mechanismus der Kontraktion

Kontraktion bei ausreichender elektrischer Erregungsfrequenz

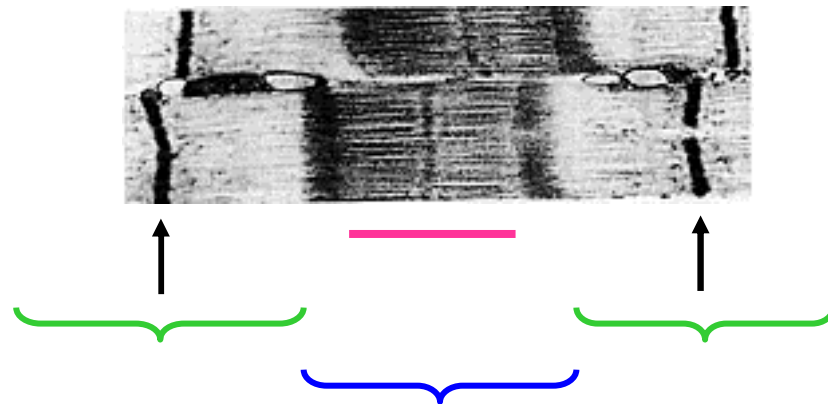
Dauerkontraktion durch lange Anregung: Tetanus







## ruhender Muskel



## (durch äußere Einwirkung) gestreckter Muskel

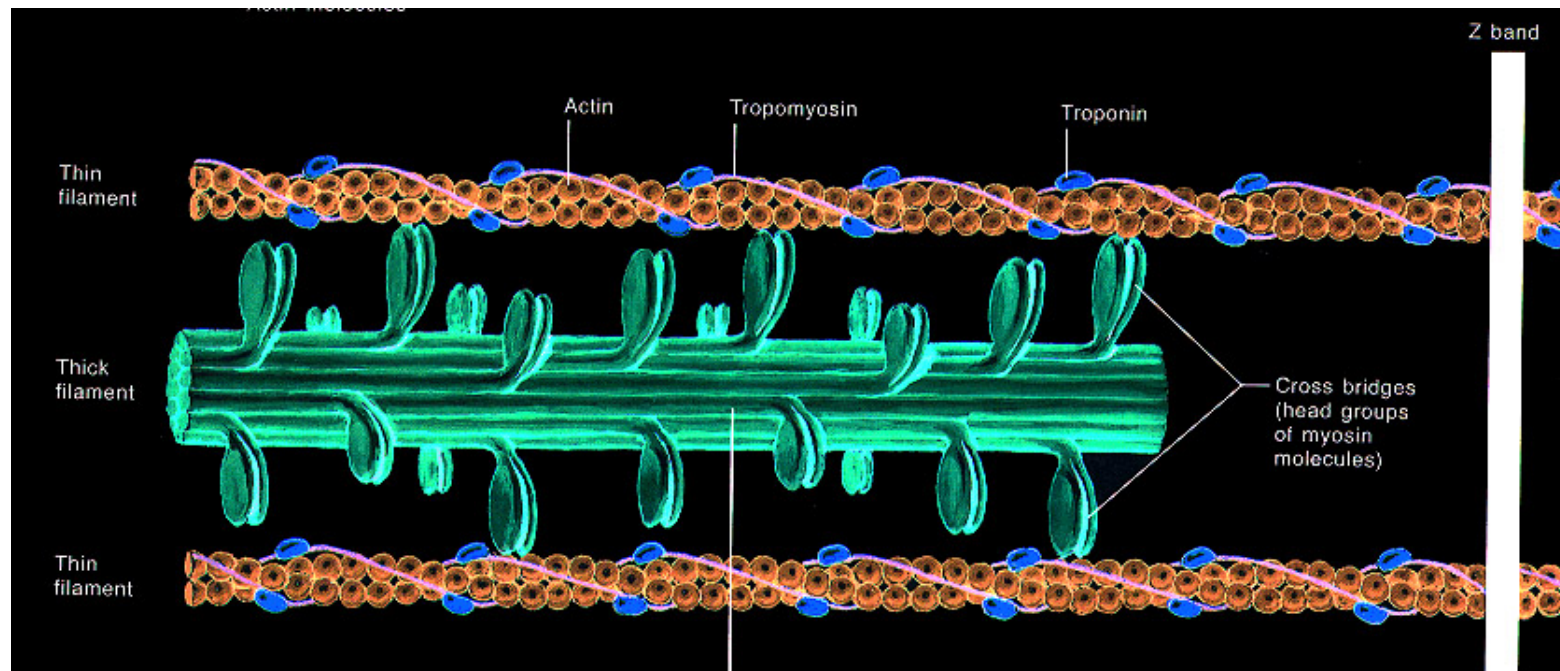
- Z-Linien weiter auseinander
- **breitere H-Zone**
- **breiteres I-Band**
- **A-Band bleibt unverändert!**

⇒ Verschiebung der Filamente gegeneinander!

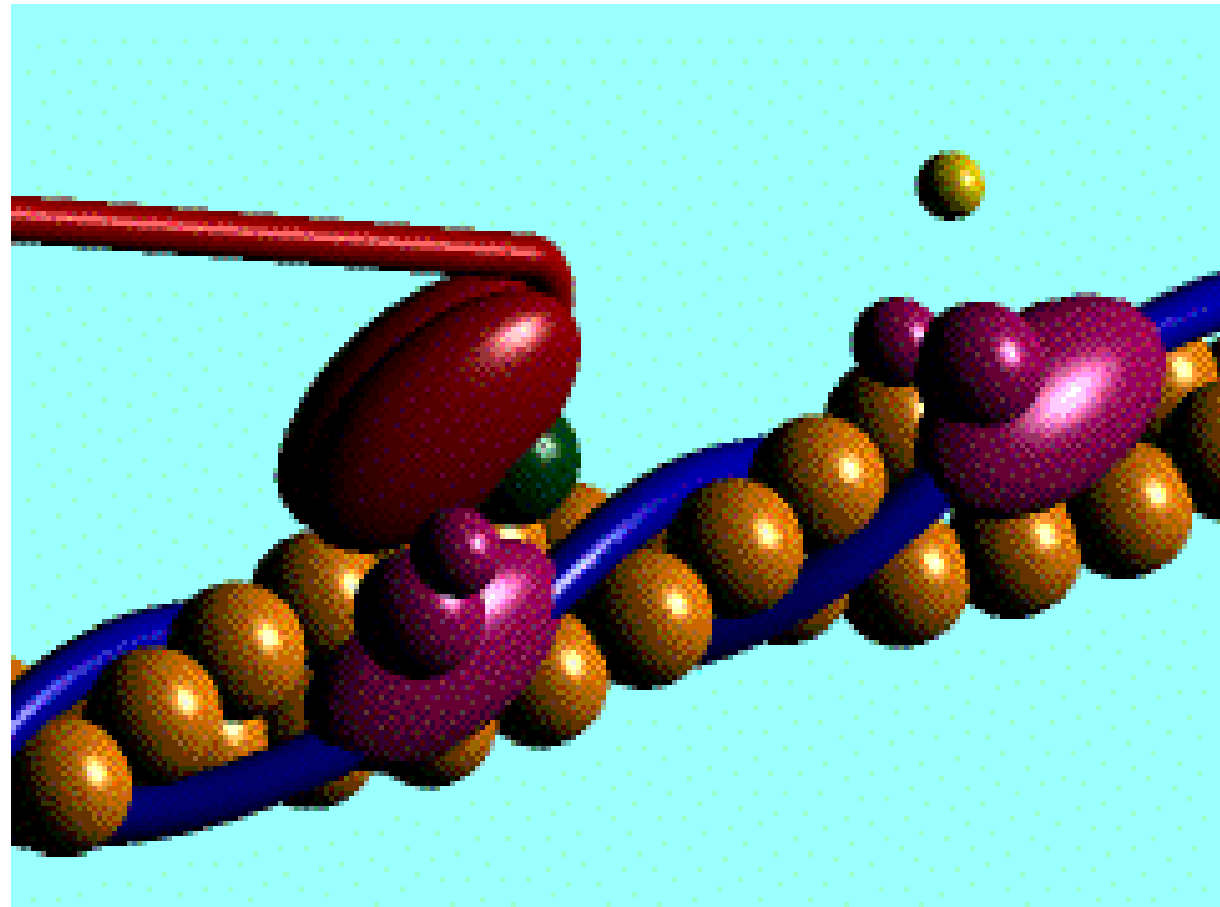
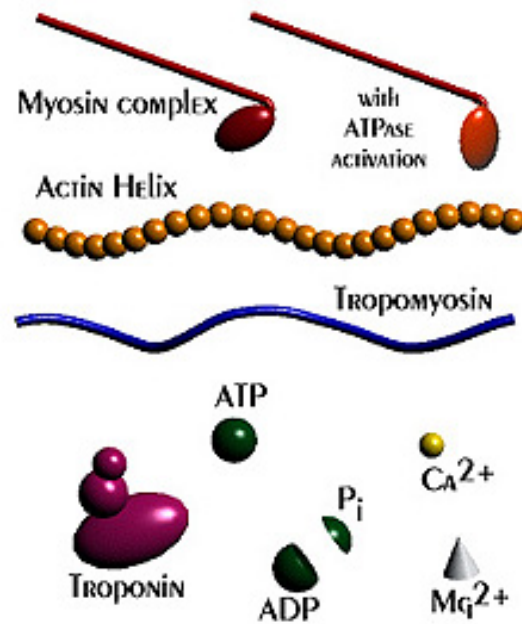


## Molekularer Mechanismus der Kontraktion

- $\text{Ca}^{2+}$ -Ausschüttung legt Myosin-Bindungsstellen am Actin durch Bewegung des Tropomyosins frei
- Myosin-Köpfe binden am Actin
- Konformationsänderung des Myosins, damit Bewegung des Kopfes um **5 – 10 nm** (Kraftstoß)
- Energiezufuhr (ATP): Bindung bricht auf, neues Binden etc. ( $1000 \text{ s}^{-1}$ !)



Muskel bei der Arbeit:  
dieser Ablauf erfolgt mit **1000 s<sup>-1</sup>**

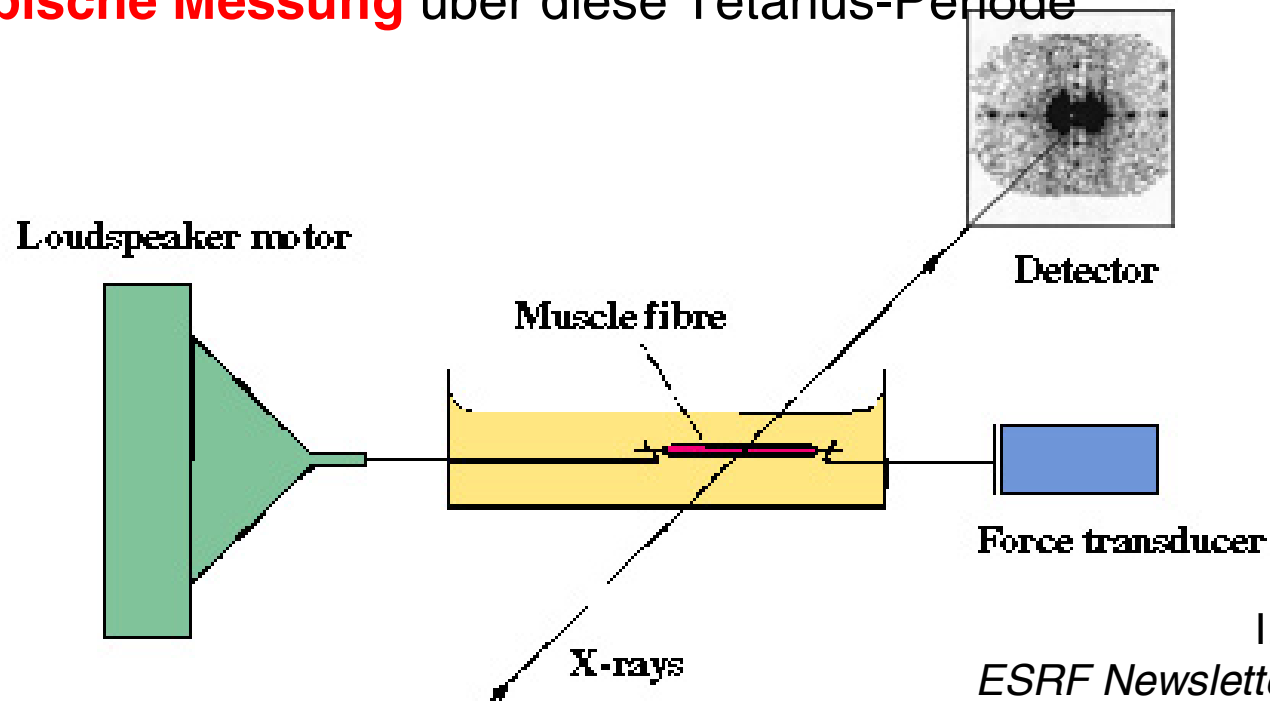


### 3.3 In situ Experimente mit Streumethoden

Synchrotron = hohe Intensität = hohe Zeitauflösung

- *einzelne* Muskelfaser ( $\varnothing$  150  $\mu\text{m}$ ), 4 °C, 2.15  $\mu\text{m}$  Sarkomerlänge
- elektrische Pulse mit 25 Hz für 550 ms  $\Rightarrow$  *Tetanus*
- nach 300 ms *Verkürzung* zugelassen (Motor, 1/3 der normalen Geschwindigkeit)
- *Kraftmessung* während des Experiments

**stroboskopische Messung** über diese Tetanus-Periode



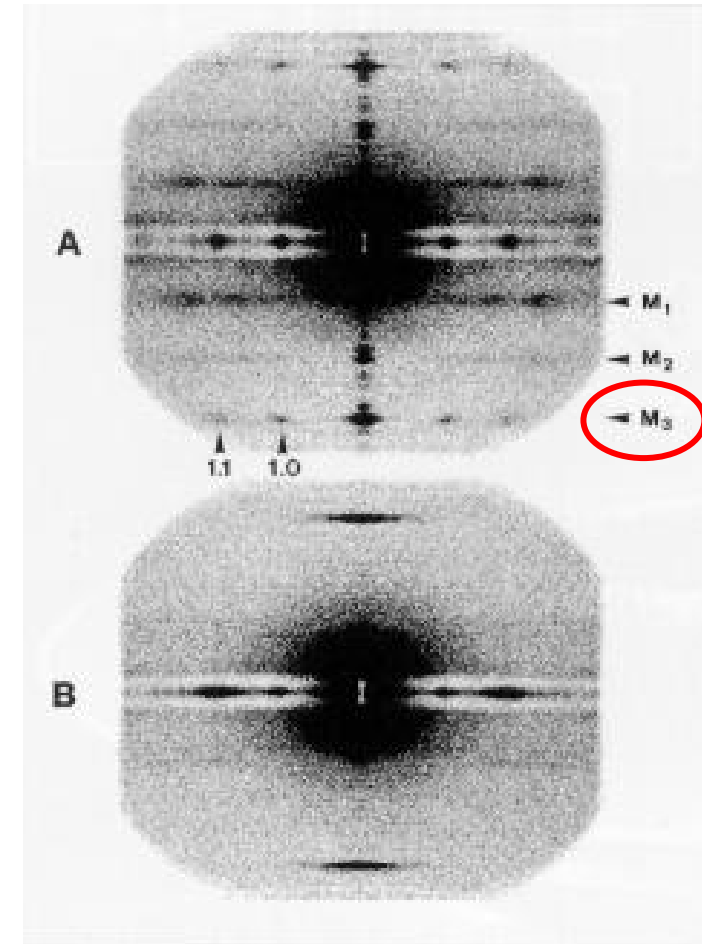
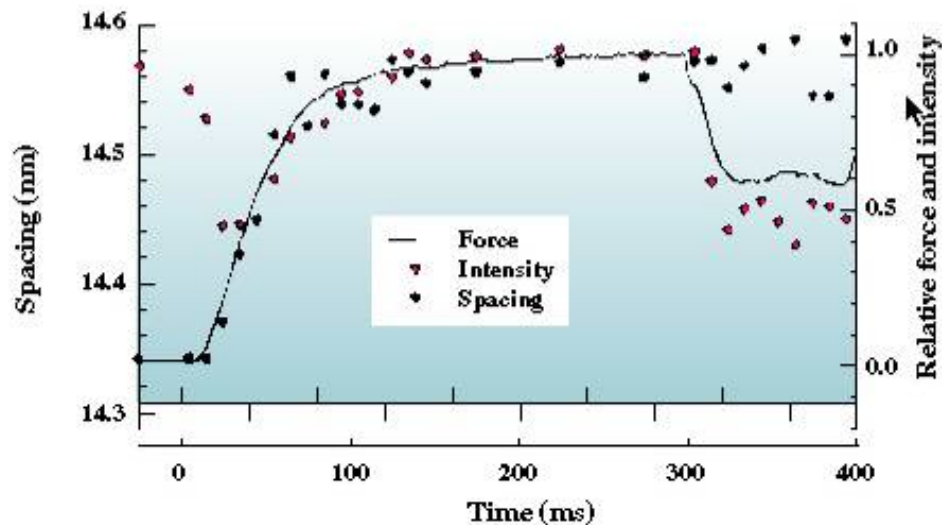
I. Dobbie *et al.*  
*ESRF Newsletter* (Jan. 1997)

**M3-Reflex** entspricht 14.3 nm Abstand der Myosin-Köpfe

Änderungen im Experiment:

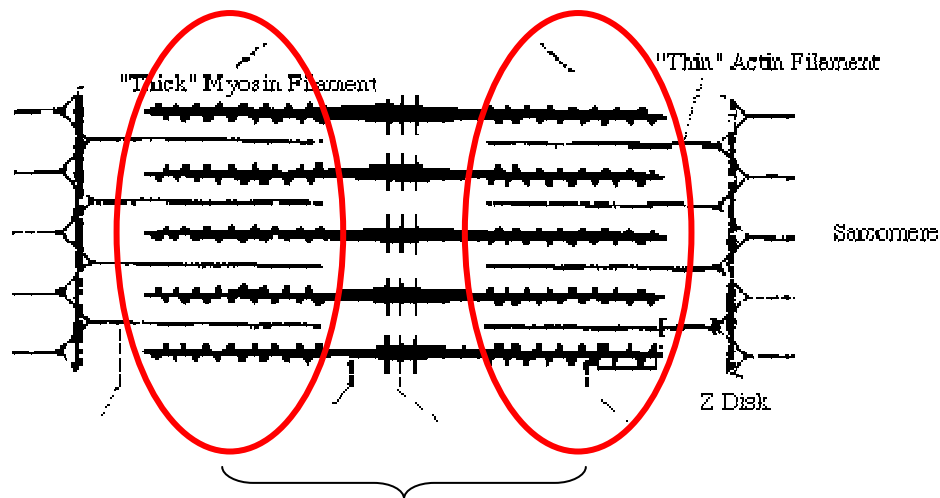
- schlechtere Orientierung (azimuthale Breiten)
- 14.34 nm  $\Rightarrow$  14.57 nm: Änderung folgt Kraft
- Verkürzung  $\Rightarrow$  Intensitäten, nicht Reflexlage geändert

$\Rightarrow$  wahrscheinlich **Konformationsänderung der Myosin-Köpfe**

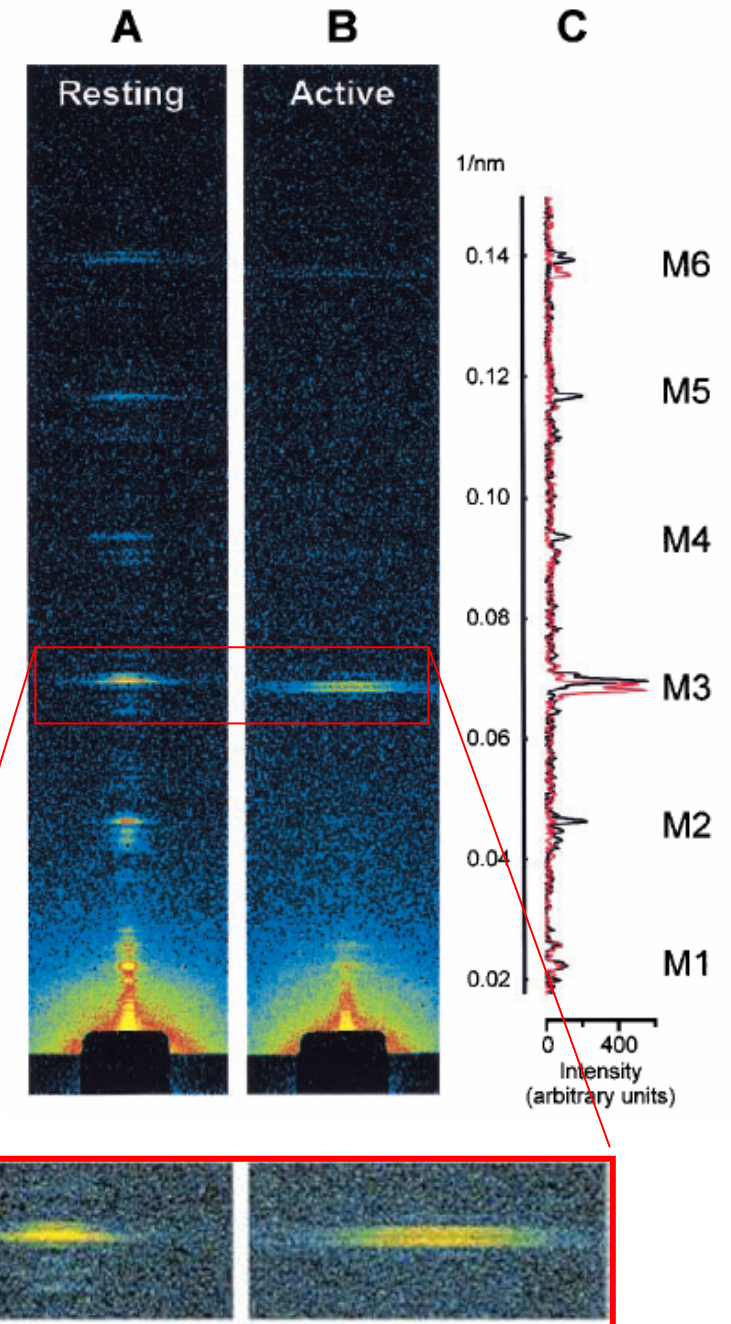


## Feinstruktur der Myosinköpfe: „Röntgeninterferometrie“

Aufspaltung des M3-Reflexes ( $d_{M3} = 14.573$  nm bei aktiver Kontraktion) durch **Interferenz** der Streusignale der beiden Myosin-Gitter des Sarkomers



Abstand 866.9 nm  $\approx 59.5 d_{M3}$   
 $\Rightarrow$  **Minimum**



hohe Sensitivität auf kleine Abstandsänderungen:

Konformationsänderung der Myosin-Köpfe würde Schwerpunkte und damit Abstand beider Gitter verschieben

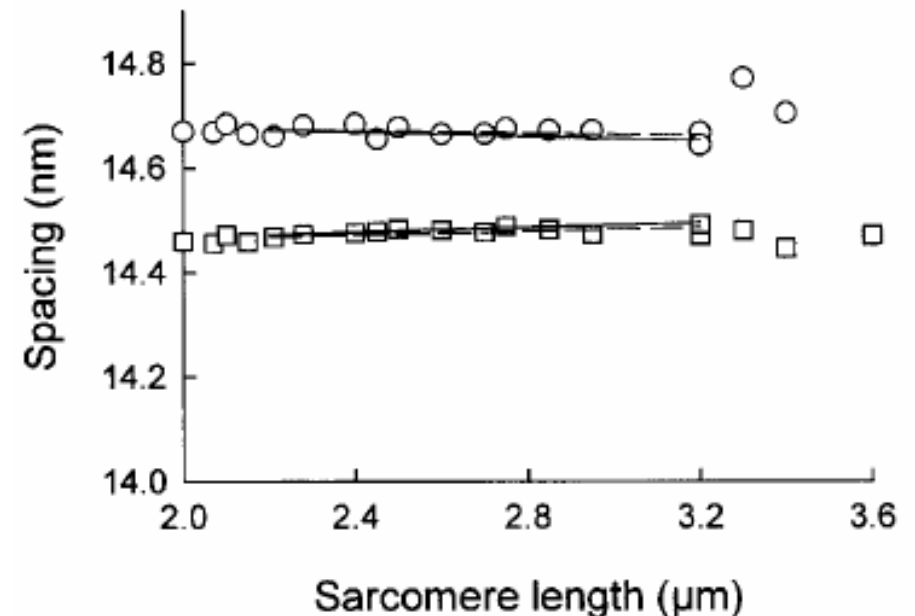
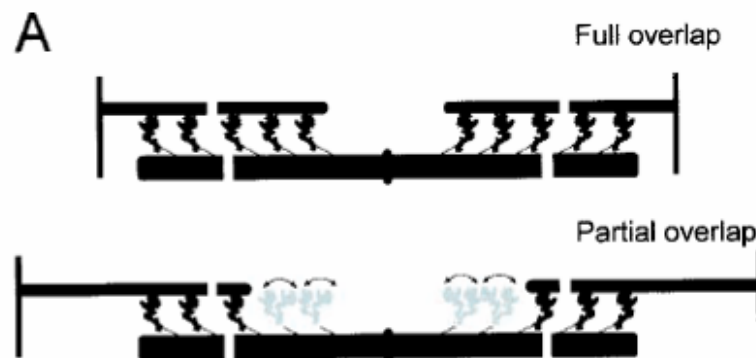
*Beispiel:* 0.5 nm Verschiebung  $\Rightarrow$  30 % relative Intensitätsänderung  
(Experimente hierzu stehen noch aus)

Abhängigkeit von der Sarkomerlänge:

**vergrößerter** Abstand der Gitter

$\Rightarrow$

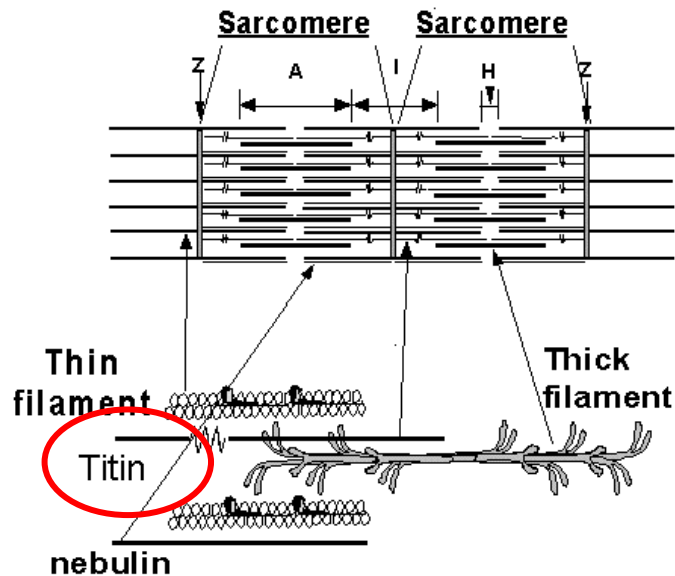
**engeres** Interferenzmuster





### 3.4 Rolle von Titin in Muskeln

*vollständiges Modell...*



Titin sorgt für

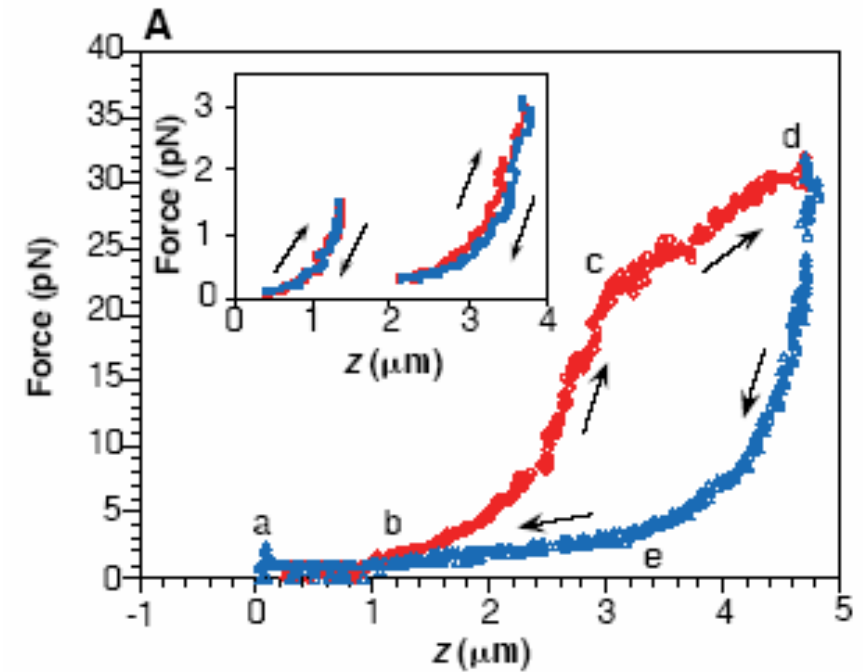
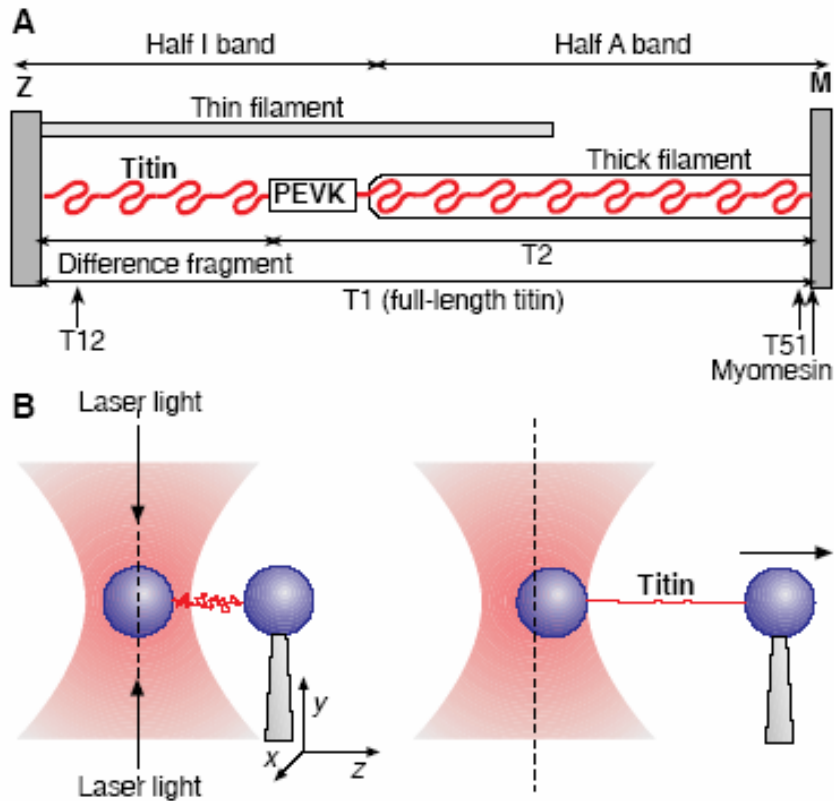
- **Ruhespannung** von Muskeln
- **Längenbegrenzung**
- **Zentrierung** der Filamente

größtes Protein im menschlichen Körper:  
3 MDa, ca. **1  $\mu\text{m}$  Länge** (1/2 Sarkomer)

#### Experimente zu **mechanischen Eigenschaften** von Titin an Einzelmolekülen

- Latex-Kügelchen als Halter, Laser-Pinzetten (auch zur Kraftmessung)
- Moleküle auf Goldoberfläche verankert, AFM-Spitze





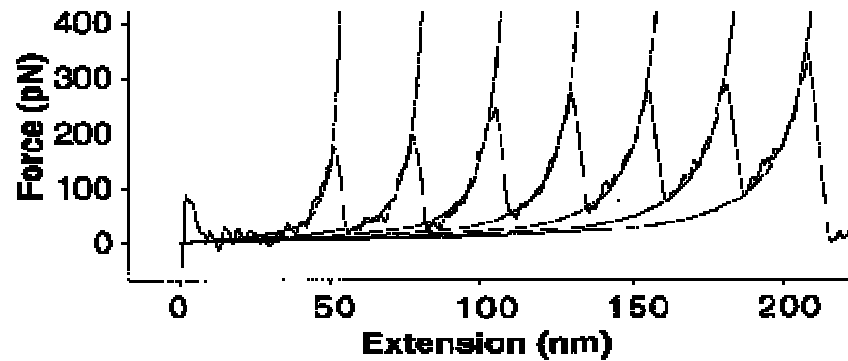
**bis zur Streckgrenze (C):**

**elastische** Dehnung, entweder durch Entfaltung der PEVK-Region (Prolin, Glutamat, Valin, Lysin) oder durch Dehnung bereits vorentfalteter Proteinstrukturen

⇒ „entropische Feder“



**nach der Streckgrenze:**  
 sukzessive Entfaltung Immunoglobulin-  
 ähnlicher Bereiche



Verlängerungsmöglichkeit bei  
 gleichzeitigem Erhalt der Elastizität  
 (in PEVK-Region)

