

# STRÖMUNGSMECHANISCHE UNTERSUCHUNGEN DER ZYTOPLASMASTRÖMUNG VON AMOEBA PROTEUS

## INVESTIGATIONS OF THE CYTOPLASM FLOW OF AMOEBA PROTEUS

Elka Lobutova<sup>1</sup>, Danja Voges<sup>2</sup>, Christian Resag<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Thermo- und Fluidodynamik

<sup>2</sup> Fachgebiet Biomechatronik

Technische Universität Ilmenau, Fakultät für Maschinenbau, PF 100565, 98684 Ilmenau

μ-PIV, biologische Strömungen  
biological flow

### Zusammenfassung

Wir berichten über die Untersuchungen der amöboiden Fortbewegung am Beispiel Amoeba proteus. Mittels Micro Particle Image Velocimetry und Bildverarbeitung wurden ausführliche Messungen der Innenströmung und der Bewegung des Flächenschwerpunktes von Amöben durchgeführt und dabei charakteristische Geschwindigkeitsfelder gefunden. Die lokale Zytoplasmageschwindigkeit reicht von 0,3 μm/s bis 10 μm/s und die zeitgemittelte Geschwindigkeit ist bis zu viermal höher als die Geschwindigkeit des Flächenschwerpunktes der Amöbe.

### Einleitung

Amoeba proteus ist das klassische Beispiel für das Studium der amöboiden Fortbewegung. Die Gattung Amoeba (aquatisch oder parasitisch) ist ein typisches Exemplar für Einzeller mit einer Zellmembran, einer dicken Gel-Schicht (Ektoplasma), einem Endoplasma (Sol) und vielen endogene Partikeln wie Lipidkörper oder Nahrungsvakuolen. Die amöboide Fortbewegung ist im Tierreich eine verbreitete Art von Bewegung, charakterisiert durch Zytoplasmaströmung und ständige Änderung der Körperform (Einzeller, Leukozyten, Schleimpilze...). Im Grunde genommen verläuft die Fortbewegung in drei Schritten: 1.) Extension: Die Pseudopodien werden in Fortbewegungsrichtung ausgebildet. 2.) Adhäsion: Die Pseudopodien werden durch neue Adhäsionspunkte auf der Unterlage befestigt. 3.) Retraktion: Der restliche Körper wird nachgezogen [Condeelis 1993, Rogers et al 2008, Stossel 1993]. Pseudopodien (die Anzahl ist nicht fest) können an jede Stelle des Körpers gebildet werden (siehe Abb. 1). Das ist ein kontinuierlicher Prozess, der im Allgemeinen durch lokale Änderung der mechanischen Nachgiebigkeit des Ektoplasmas beschrieben werden kann.

Seit mehr als 100 Jahre werden die Mechanismen der Zytoplasmaströmung studiert. Sie basiert auf einer Wechselwirkung zwischen dem Aktin-Myosin System, Kalzium-Ionen, Aktin bindende Proteine, dem osmotischen Druck und dem Sol-Gel-Transformation während der Fortbewegung [Mitchison et al 1996, Patrick et al 1995, Pomorski et al 2007].

Weniger beschrieben sind in der Literatur die detaillierten Eigenschaften der Zytoplasmaströmung. In dieser Arbeit werden wir die Amöbe vom strömungsmechanischen Gesichtspunkt betrachten, um die Grundlage für die analytische Beschreibung der Fortbewegung durch Formänderung und für die anschließende Modellierung der Bewegungsmechanismen zu schaffen.

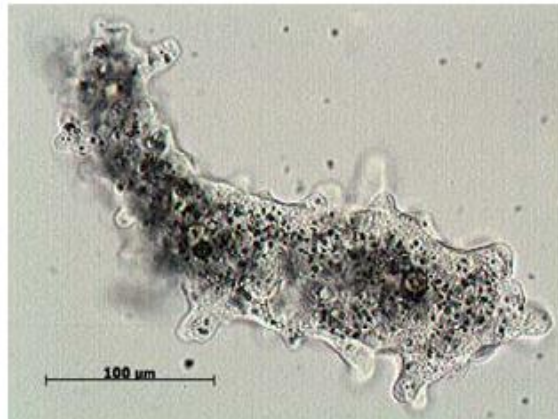


Abb. 1: Amoeba proteus unter dem Mikroskop.

## Experiment

Der experimentelle Aufbau des Mikro-PIV-Messplatzes ist in Lobutova et al. 2011 und Lobutova et al. 2012 in Detail beschrieben. Er besteht aus einem Phasenkontrast-Mikroskop und einer 1,4 MPixel CCD- Kamera. Die Aufnahmefrequenz der Kamera beträgt 10 Hz. Die Beleuchtung erfolgt über die im Mikroskop eingebaute Halogenlampe. Als Tracer-Partikel werden die von Natur aus in dem Zytoplasma vorkommenden Partikel genutzt (siehe Abb. 1). *A. proteus* werden in einer Lösung von Mineralwasser und Erdabkochungsextrakt gehalten. Für die Untersuchungen werde sie einzeln entnommen und in einen „Channel Slide“ der Firma ibidi eingeführt, siehe Abb.2.

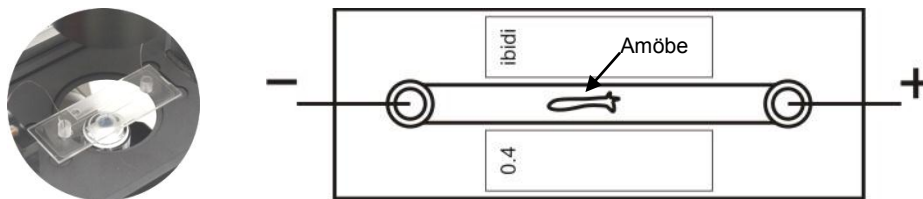


Abb. 2: „Channel Slide“ mit Maße 50 x 5 x 0,4 mm

*A. proteus* bewegen sich mithilfe von Pseudopodien fort, die an jeder Stelle der Zelloberfläche entstehen können. Die variable Anzahl, Form und Größe der Pseudopodien erschweren es, quantitative Aussagen über ihr Fortbewegungsverhalten zu treffen. Um die Fortbewegung zu kontrollieren, werden die *A. proteus* im elektrischen Feld untersucht, siehe Korohoda et al. 2000. In vorliegendem Experiment wurde mit zwei Platin-Elektroden im Abstand von 50 mm und einer Gleichspannung von 25 V gearbeitet. Der entsprechende galvanische Strom lag bei 0,02 mA. Damit erreicht man, dass sich die *A. proteus* vorzugsweise parallel zum äußeren Feld bewegen und nur selten Pseudopodien senkrecht dazu ausbilden.

## Ergebnisse und Diskussion

Mittels Mikro-PIV wurde das Geschwindigkeitsfeld innerhalb einer kriechenden Amöbe gemessen, siehe Abb. 3. Die räumliche Auflösung ist 8 µm und die zeitliche Auflösung 100 ms. Das Geschwindigkeitsfeld zeichnet sich durch eine ausgeprägte Strömung im Inneren der Amöbe und langsam strömende Gebiete in der Nähe der Zellmembran aus. Das Verhältnis zwischen dem schnell fließenden Endoplasma zu dem langsam fließenden Ektoplasma än-

dert sich entlang der Längsachse der Amöbe. An der Vorderseite der Amöbe strömt das Endoplasma über die gesamte Breite bis auf zwei enge Streifen an der seitlichen Zellwand. Entlang der Amöbe wird der Kanal enger, während der langsam strömende Randstreifen des Ektoplasmas breiter wird. Das gemittelte Strömungsprofil in Abbildung 4a zeigt ein parabolisches Geschwindigkeitsprofil des flüssigen Endoplasmas bei  $x = 328 \mu\text{m}$  und das viermal langsamer strömende Ektoplasma. Im hinteren Teil der Amöbe, dem so genannten Uroid, beobachten wir niedrigere Geschwindigkeiten die gleichmäßig über die gesamte Fläche verteilt sind, siehe Abb. 3.

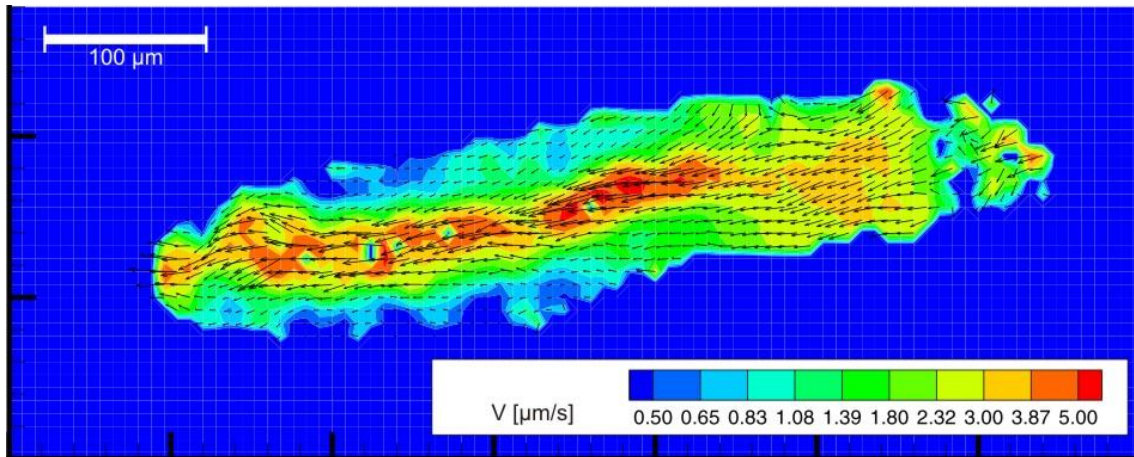


Abb. 3: Gemitteltes Geschwindigkeitsfeld der Innenströmung der *A. proteus*

Die Form des Geschwindigkeitsfeldes kann mit der Bildung von Scheinfüßchen erklärt werden. Dafür muss die Amöbe mittels einer Art hydrostatischen Pumpe Zytoplasma von hinten nach vorne fördern. Dieser Pumpenmechanismus basiert auf der Sol-Gel-Transformation des Zytoplasmas, die zur Entstehung von einer viskoelastischen kontraktile Außenschicht (Gel) und gleichzeitig zu einer Vorwärtsströmung des Endoplasmas (Sol) führt, siehe Hickman et al..

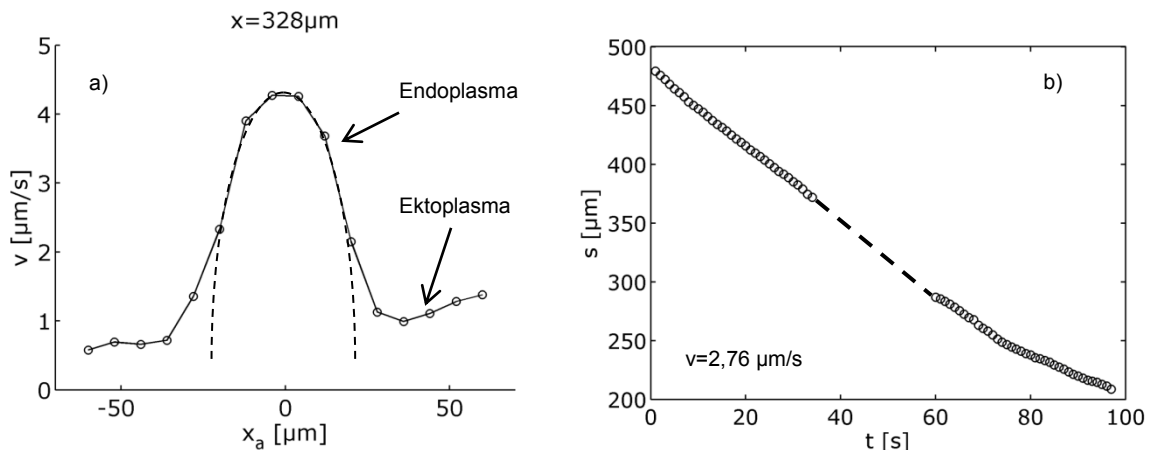


Abb. 4: a) Parabolisches Geschwindigkeitsprofil der niedrigviskosen Strömung in der Mitte des Zytoplasmas (Endoplasma), hochviskose Regionen (Ektoplasma) am Rand bewegen sich langsamer mit der Zellmembrane b) Bewegung des Flächenschwerpunktes einer Amöbe, die Geschwindigkeit des Schwerpunktes variiert zwischen 2 und 3 μm/s und entspricht einem Drittel der Maximalgeschwindigkeit der Zytoplasmaströmung. Geschtrichelte Linie: Aufnahmepause Nachführung des Beobachtungsfeldes.

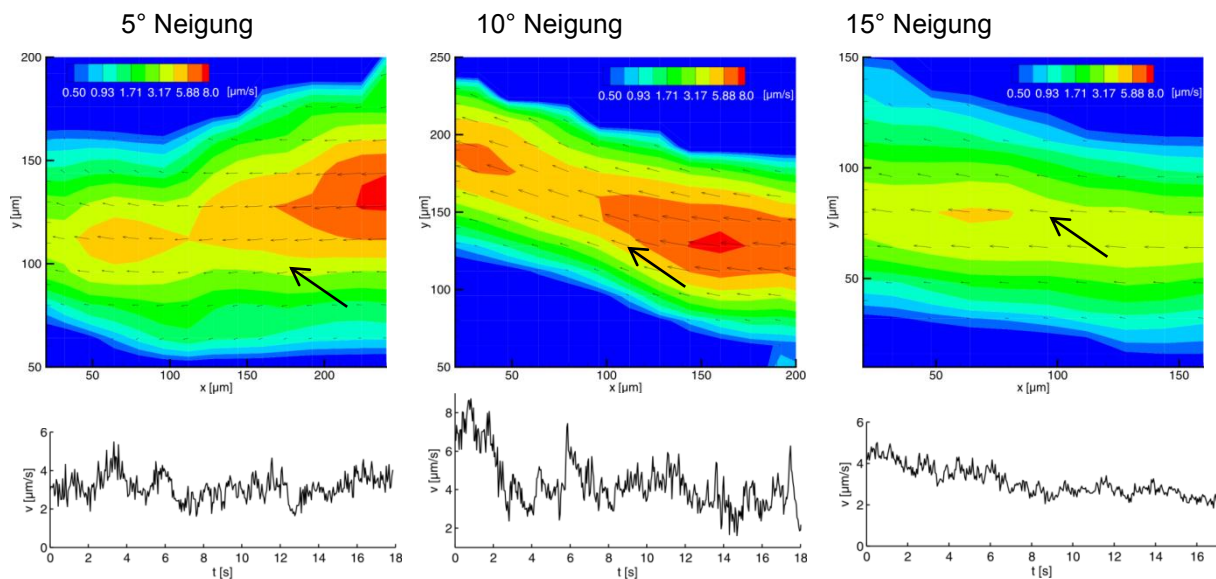


Abb. 5: Oben: Zeitgemitteltetes Geschwindigkeitsfeld der Zytoplasmaströmung bei verschiedenen Neigungen der Kriechebene. Unten: Zeitreihe der Geschwindigkeit an dem oben mit Pfeil gekennzeichneten Punkt.

Um die Eigenschaften des Steuermechanismus der Amöbe zu erforschen, wurden die untersuchten Exemplare einer äußeren Kraft ausgesetzt – der eigenen Gewichtskraft. Dafür wurde eine Vorrichtung gebaut, mit deren Hilfe das Mikroskop stufenlos geneigt werden kann. Dabei ist das elektrische Feld so angelegt, dass sich die Amöben aufwärts bewegen müssen. Es wurden zunächst drei Winkeleinstellungen gemessen, 5°, 10° und 15°. Bei 5° bewegt sich die Amöbe ungestört weiter, die Fluktuationen der Geschwindigkeit sind klein und im Mittel bleibt die Geschwindigkeit konstant. Bei 10° bleibt die gemittelte Geschwindigkeit in der gleichen Größenordnung, aber die Fluktuationen werden größer. Der Widerstand der Gewichtskraft scheint eine Wirkung auf dem Fortbewegungsmechanismus der Amöbe zu haben. Bei 15° ist die gemittelte Geschwindigkeit deutlich kleiner, die Fluktuationen sind auch klein und im Mittel fällt die Geschwindigkeit mit zunehmender Messdauer ab. Bei 15° ist nur diese eine Aufnahme von rund 200 Sequenzen möglich gewesen. Bei alle weiteren Versuchen haben sich die Amöben nicht in der gewünschten Richtung fortbewegt. Die Pumpmechanismus der Amöbe scheint hier den Widerstand der Gewichtskraft nicht überwinden zu können.

Die Untersuchungsergebnisse dienen zur Modellierung der amöboiden Fortbewegung und als Grundlage für die Entwicklung von Mikrorobotern mit konturvariabler Oberfläche.

## Dankesworte

Die Autoren danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Schwerpunktprogramms SPP 1207 „Strömungsbeeinflussung in der Natur und Technik“, Projekt RE 1066/10-3.

## Literatur

- Abramson, H.A., Moyer, L.S., Gorin, M.H., 1942: "Electrophoresis of proteins and the chemistry of cell surfaces" Reinhold, New York  
 Condeelis, J. 1993: "Life at the leading edge: formation of cell protrusion" Annu. Rev. Cell. Biol. 9:: 414-440  
 Hickman C. P., Roberts L. S., et al. 2008: „Pseudopodien“ In: Zoologie (13. Auflage), Pearson Studium, Addison-Wesley Verlag, München: 335-338.

- Korohoda, W., Mycielska, M., Janda, E., Madeja, Z. 2000: "Immediate and long-term galvanotactic responses of amoeba proteus to electric fields" *Cell Motil. Cytoskeleton* 45: 10-26
- Lobutova, E., Li, L., Voges, D., Resagk, C., 2011: „Micro-PIV messung in Amoeba proteus unter einwirkung eines elektrischen Feldes“, Proc. 19. Fachtagung Lasermethoden in der Strömungsmesstechnik, 25-1
- Alt, W., Böhm, V., Kaufhold, T., Lobutova, E., Resagk, C., Voges, D., Zimmermann, K., 2012: "Theoretical and experimental investigations of amoeboid movement and first steps of technical realisation", *Notes on numerical fluid mechanics and multidisciplinary design*, Vol 119, pp. 3-23
- Mitchison, T.J., Cramer, L.P. 1996: "Actin-based cell motility and cell locomotion" *Cell* 84: 371-379
- Patrick, Y.J., Peter, A.P., Scott, A.W., Elliot, L.E. 1995: "A mechanical function of myosin II in cell motility" *J. of Cell Sci.* 108: 387-393
- Pomorski, P., Krzeminski, A., Wasik, A., Wierzbicka, K., Baranska, J., Klopocka, W. 2007: "Actin dynamics in Amoeba proteus motility" *Protoplasma* 231: 31-41
- Raffel, M., Willert, C.E., Kompenhans, J. 1997: "Particle Image Velocimetry: A Practical Guide". Springer, Berlin Heidelberg New York
- Rogers, S.S., Waigh, Th.A., Lu, J.R. 2008: "Intracellular microrheology of motile Amoeba proteus" *Biophys. J.* 94: 3313-3322
- Seaman, G.V.F. 1965: "Electrophoresis using a cylindrical chamber" In: Ambrose, E.J. (ed.) *Cell electrophoresis*, pp. 4-21. J&A. Churchill Ltd, London
- Stossel, Th.P. 1993: "On the crawling of animal cells" *Science* 260: 1086-1094
- Teixeira-Pinto, A.A., Nejelski, J.R., Cutler, J.L., Heller, J.H. 1960: "The behavior of unicellular organisms in an electromagnetic field" *Exp. Cell Res.* 20: 548-564