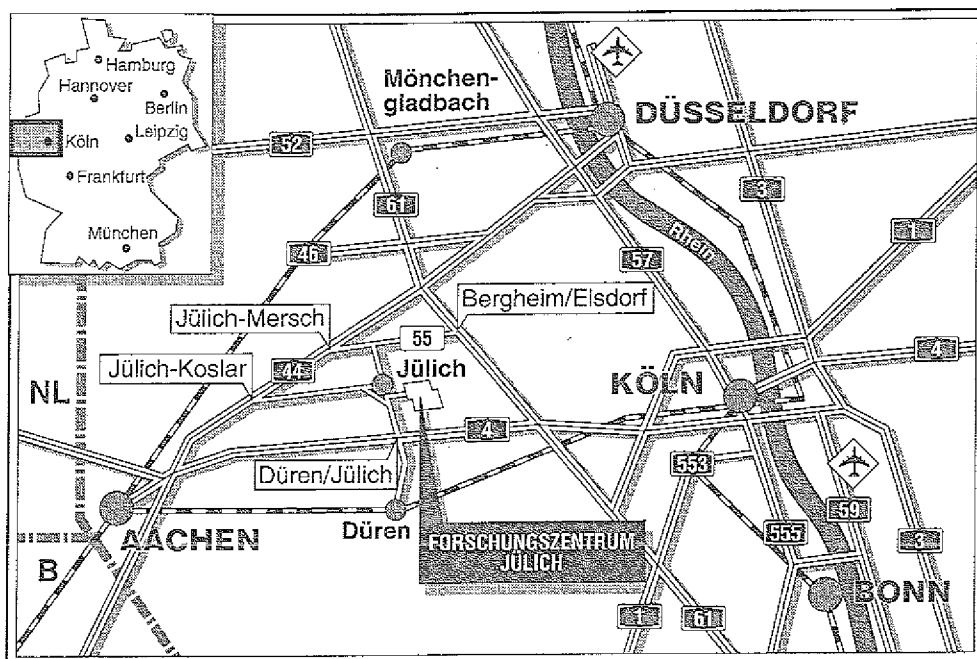


Institut für Biologische Informationsverarbeitung

**Stochastische Modelle
zur Beschreibung zeitlicher Strukturen
im lichtgesteuerten Schwimmverhalten
von *Halobacterium halobium***

Holger Naber



Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 2802

ISSN 0944-2952

Institut für Biologische Informationsverarbeitung Jül-2802

D82 (Diss. RWTH Aachen)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek

D-52425 Jülich · Bundesrepublik Deutschland

Telefon: 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · Telex: 833556-70 kfa d



THESE DOCUMENTS SONT
DEPOSES A LA BIBLIOTHEQUE
NATIONALE DE FRANCE
LE 10/01/2001

THESE DOCUMENTS SONT
DEPOSES A LA BIBLIOTHEQUE
NATIONALE DE FRANCE
LE 10/01/2001

**Stochastische Modelle
zur Beschreibung zeitlicher Strukturen
im lichtgesteuerten Schwimmverhalten
von *Halobacterium halobium***

Holger Naber

[illegible]

Abstract

Halobacteria are light sensitive, motile microorganisms, which are propelled by rotating flagella. Under stationary and spatially homogeneous light conditions they change the rotational sense of the flagella spontaneously about every 10–30 s thereby reversing their swimming direction. The distribution of the swimming intervals, i.e., of the intervals between two successive reversals, is asymmetric with a long tail. Light or chemical stimuli may alter this spontaneous behavior. A step-up or step-down of the intensity of green light prolongs or shortens a swimming interval, respectively. Stimuli in the UV range have the opposite effect. As a response to periodic light pulses as well as upon treatment with a certain chemical (IBMX) temporal patterns in the swimming behavior are observed. Detailed knowledge of the molecular basis of signal transduction in Halobacteria is scarce, however.

In this thesis simple mathematical models of the system are analysed to get insight into the dynamical mechanism which may underly the swimming behavior of the bacteria. They are based on hypotheses which have previously been proposed to explain the experimental observations. In terms of stochastic processes the basic assumption is that the interval distributions have to be interpreted as first passage time distributions for the transition from clockwise (CW) to counterclockwise rotation (CCW) of the flagella, or vice versa.

At first a phenomenological model is analysed. The "Two-state Model" cannot explain the characteristic shape of the distribution of spontaneous swimming intervals, but allows to study the action of light stimuli. All information about the microscopic process between two reversals is comprised in an explicitly time dependent transition probability between the CW and CCW state. It is assumed that the course of this transition probability transiently changes due to light stimuli. In this way the response of the bacteria to single stimuli prolonging a swimming interval as well as several phenomena observed in connection with periodic light pulses may be understood. In order to reproduce the response to single stimuli shortening a swimming interval or the swimming interval distributions observed after treatment with IBMX the occurrence of virtual reversals should be possible. This means that the biochemical steps between the CW and CCW state may proceed without eventually leading to a reversal in every case.

The second model provides a microscopic explanation for the time dependent transition probability between the CW and CCW state, which has phenomenologically been introduced in the Two-State Model. The "Oscillator Model" assumes the existence of an intracellular biochemical oscillator, which triggers a reversal of the rotational sense of the flagella, when the concentration of an oscillating substance reaches a threshold. Light stimuli drive the oscillator parametrically. In this model the explanation of the occurrence of virtual reversals is straightforward, if fluctuations of the oscillating substances are taken into account. It may thus explain many of the experimental observations although there are some unanswered questions, in particular with respect to correlations between succeeding swimming intervals which have been noted in some experiments with periodic light pulses.

Technically both models are formulated in terms of a Master equation and simulated using standard methods.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	1
1.1	Das Schwimmverhalten von Halobakterien	1
1.1.1	Experimentelle Daten	2
1.1.2	Mikroskopische Mechanismen	12
1.2	Vorbemerkungen zur Modellbildung	15
1.2.1	Aussagefähigkeit der Modelle	15
1.2.2	Physikalische Konzepte	16
2	Das Zwei-Zustands-Modell	18
2.1	Allgemeines Konzept	18
2.1.1	Die First-passage-time-Verteilung	19
2.2	Simulation des Schwimmverhaltens	20
2.2.1	Die Spontanintervallverteilung	21
2.2.2	Antwort auf einzelne Lichtreize	21
2.2.3	Antwort auf periodische Lichtreize	26
2.3	Diskussion	30
3	Das Oszillatormodell	32
3.1	Allgemeines Konzept	32
3.1.1	Grundlegende Annahmen	32
3.1.2	Dynamik – deterministischer Ansatz	33
3.1.3	Dynamik – stochastischer Ansatz	34
3.2	Das Reaktionssystem	35
3.3	Die Ratengleichungen	38
3.3.1	Stationärer Zustand und lineare Stabilitätsanalyse	38
3.3.2	Zeitabhängige Lösungen	41
3.4	Die Master-Gleichung	43
3.4.1	Simulation des stochastischen Prozesses	44
3.5	Simulation des Schwimmverhaltens	45
3.5.1	Spontanintervallverteilungen	45
3.5.2	Stufenweise Variation eines Kontrollparameters	46
3.5.3	Antwort auf einzelne Lichtreize	49
3.5.4	Antwort auf periodische Lichtreize	56
3.6	Diskussion	61

4 Beschreibung einiger Teilaspekte	64
4.1 Grenzyklus-Oszillationen: Phasenfluktuationen	64
4.1.1 Die Fokker-Planck-Gleichung	65
4.1.2 Die First-passage-time-Verteilung	66
4.1.3 Beispiel	67
4.2 Periodische Reize	69
4.3 Die Zustandskette	72
4.3.1 Die First-passage-time-Verteilung	72
4.3.2 Anpassung an experimentelle und simulierte Verteilungen	75
5 Zusammenfassung	78
Anhang	81
A Trimolekulare Reaktionen	81
B Lokale Bifurkationen	83
C Simulationsalgorithmen	85
Literaturverzeichnis	90

Kapitel 1

Einführung

Für biologische Systeme ist die zeitliche Organisation von Prozessen mit den unterschiedlichsten Funktionen von großer Bedeutung. Rhythmische Phänomene sind weit verbreitet und treten auf vielen Zeitskalen auf [1, 2]. Zu den bekanntesten zählen circadiane Rhythmen, die beim Menschen eine Periodenlänge von etwa 25 Stunden haben. Dies wurde in vielen Experimenten mit Versuchspersonen unter Bedingungen der Zeitisolation nachgewiesen [3]. Ein Beispiel für zeitliche Strukturen auf einer sehr viel kürzeren Zeitskala ist die Informationsverarbeitung im Gehirn. Messungen der Latenzzeit beispielsweise, nach der das Auge einem sich bewegenden Lichtfleck folgt, führen auf multimodale Verteilungen, deren Maxima einen Abstand von etwa 30 ms haben [4]. Diese Zahl taucht auch in anderen Experimenten zu zeitlichen Aspekten der Informationsverarbeitung im Gehirn auf und bedeutet eine zeitlich diskontinuierliche Verarbeitung sensorischer Informationen.

Die vorliegende Dissertation behandelt auf Modellebene mögliche Mechanismen zum Verständnis zeitlicher Strukturen im Schwimmverhalten von *Halobacterium halobium* (kurz „Halobakterien“). Diese Bakterien können Licht- in Stoffwechselenergie umsetzen. Bei der Auffindung von Bereichen in ihrer Umgebung, die für diesen Prozeß günstig sind, spielt die rhythmische Änderung der Schwimmrichtung eine entscheidende Rolle.

1.1 Das Schwimmverhalten von Halobakterien

Halobakterien gehören zur Gruppe der Archaeobakterien und sind stammesgeschichtlich sehr alt. Natürliche Lebensräume sind stark salzhaltige Umgebungen ($> 2 \text{ mol/l NaCl}$), wie z.B. das Tote Meer. Die stäbchenförmigen Bakterien besitzen an den Polen relativ starre, rotierende Geißeln, die eine Bewegung in Richtung der Längsachse der Zelle bewirken [5]. Unter zeitlich und räumlich homogenen äußeren Bedingungen ändert sich die Drehrichtung der Geißeln¹ und damit die Schwimmrichtung der Bakterien spontan etwa alle 10–30 s [6]. Da die Schwimmintervalle für beide Geißeldrehrichtungen im Mittel gleich sind [7] und die Bakterien nach einem Umkehrereignis i. allg. nicht auf dem ursprünglichen Weg zurückschwimmen, vollführen sie unter diesen Bedingungen eine ungerichtete Bewegung, die üblicherweise als „Random walk“ bezeichnet wird.

¹Das Umschalten der Geißeldrehrichtung wird im folgenden als „Umkehrereignis“ und die Zeitdifferenz zwischen zwei Richtungsänderungen als „Schwimmintervall“ bezeichnet.

Dieses Verhaltensmuster kann durch Lichtreize transient verändert werden. Eine Zunahme der Lichtintensität im grünen und roten Bereich (530–620 nm) verlängert ein Schwimmintervall, die Abnahme der Intensität im selben Wellenlängenbereich verkürzt ein Schwimmintervall. Lichtreize im nahen UV und blauen Bereich (350–500 nm) haben den entgegengesetzten Effekt: Eine Intensitätszunahme bewirkt die Verkürzung, eine Intensitätsabnahme die Verlängerung eines Schwimmintervalls [8–11]. Reize, die ein Schwimmintervall verlängern bzw. verkürzen, werden auch als Attractant- bzw. Repellent-Reize bezeichnet. Aus folgendem Grund: In einem räumlichen Lichtgradienten erfahren die Bakterien während eines Schwimmintervalls eine zeitliche Änderung der Lichtintensität. Entspricht diese Intensitätsänderung einem Attractant-Reiz, wird ein Umkehrereignis unterdrückt, und die Bakterien schwimmen eine längere Strecke in der bisherigen Richtung. Eine einem Repellent-Reiz entsprechende Intensitätsänderung hingegen induziert ein Umkehrereignis. Halobakterien haben deswegen in räumlichen Lichtgradienten eine bevorzugte Schwimmrichtung. Im Endeffekt führt das dazu, daß kurzwelliges Licht gemieden (Repellent-Licht) und langwelliges Licht aufgesucht wird (Attractant-Licht). Neben diesem photosensorischen Verhalten zeigen Halobakterien auch Chemotaxis, wobei man wie bei Lichtreizen Attractant- und Repellent-Substanzen unterscheiden kann [9, 12].

Die Lichtsensitivität wird durch Retinalpigmente in der Zellmembran der Bakterien vermittelt. Bisher sind vier verschiedene Pigmente bekannt: Bacteriorhodopsin (BR), eine lichtgetriebene, auswärtsgerichtete Protonenpumpe [13], Halorhodopsin (HR), eine lichtgetriebene, einwärtsgerichtete Chloridpumpe [14], und die sensorischen Rhodopsine I und II (SR I und SR II) [15–17]. SR I existiert in zwei aktiven Formen: der Grundzustand absorbiert maximal bei 587 nm und ist ein Rezeptor für Attractant-Licht; die zweite aktive Form ist ein langlebiges Photoprodukt mit maximaler Absorption bei 373 nm und ein Rezeptor für Repellent-Licht. SR II wurde als ein weiterer Repellent-Rezeptor identifiziert, mit maximaler Absorption bei 490 nm. BR und HR sind für lichtabhängige Verhaltensantworten der Bakterien nicht erforderlich [18]. Der durch BR erzeugte Protonengradient treibt eine ATPase und dient so zur Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie. Wegen der Ähnlichkeit der Absorptionsspektren von BR und SR I₅₈₇, bedeutet die gerichtete Bewegung der Bakterien in Lichtgradienten das Aufsuchen von Bereichen, die für diese Energieproduktion günstig sind.

1.1.1 Experimentelle Daten

Im folgenden werden die für diese Arbeit herangezogenen, experimentellen Daten im Detail vorgestellt. Die Experimente von Ulrich Krohs sind Teil seiner Dissertation und bisher unveröffentlicht. Der technische Aufwand für die Messungen ist gering, sie sind jedoch in der Durchführung sehr zeitaufwendig. Die Bakterien werden mittels Lichtmikroskop und Videokamera direkt beobachtet und die Länge von Schwimmintervallen durch manuelle Betätigung einer elektronischen Stoppuhr bestimmt.

Verteilungen von Spontanintervallen

Als Spontanintervalle werden Schwimmintervalle bezeichnet, die unter stationären und räumlich homogenen äußeren Bedingungen beobachtet werden. Häufigkeitsverteilungen

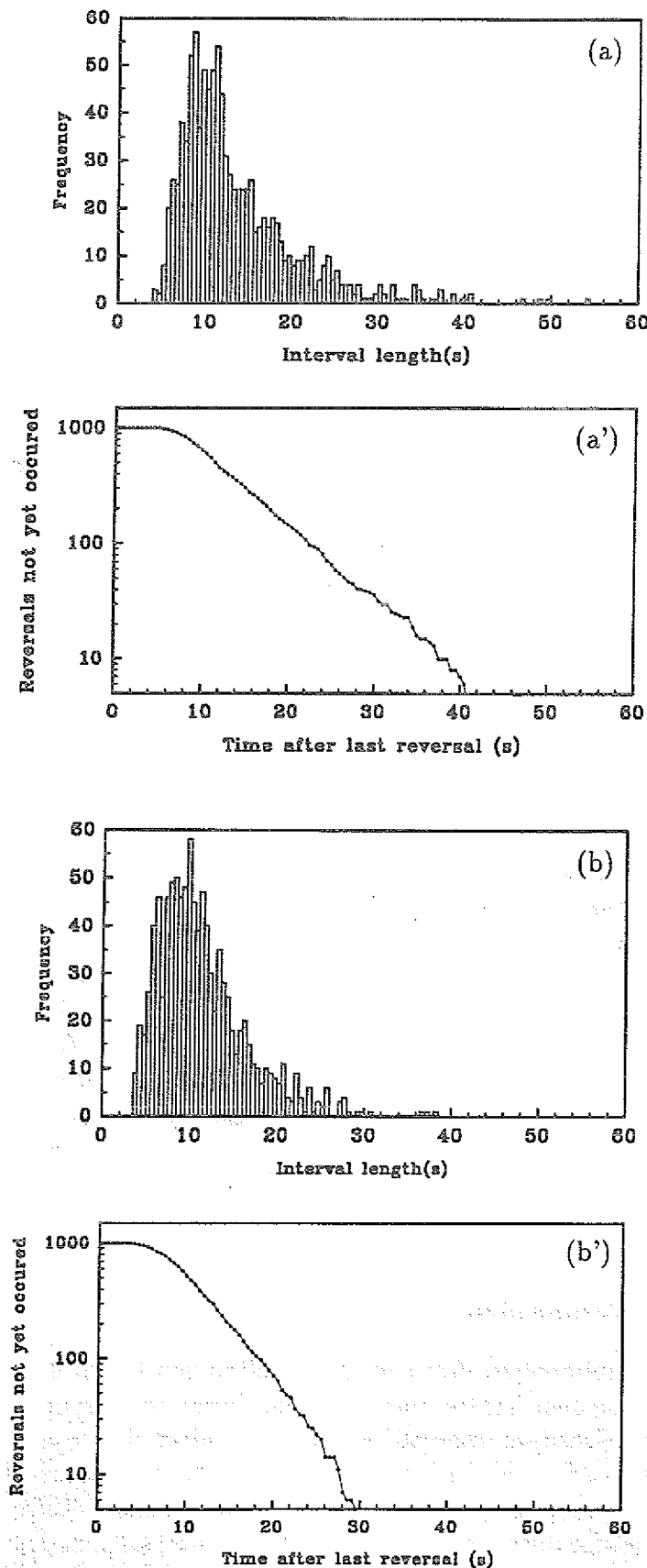


Abb. 1.1: Verteilungen von Spontanintervallen für Bakterien des Stammes Flx3 bei 26°C mit infrarotem Hintergrundlicht ($\lambda > 830$ nm) [20]. Aufgetragen sind Häufigkeitsverteilungen von $N = 1000$ Schwimmintervallen, (a) gemessen an verschiedenen Bakterien, (b) gemessen an einem einzelnen Bakterium. (a') und (b') zeigen dieselben Daten wie in (a) und (b) in einer anderen Darstellung, die zur Verdeutlichung einer exponentiell abfallenden Flanke der Verteilungen gut geeignet ist. Auf der Ordinate ist die Anzahl n von N Schwimmintervallen aufgetragen, die länger als eine gegebene Zeit t sind. Bezeichnet $\rho(t)$ die Wahrscheinlichkeitsdichte der Schwimmintervalle, so ist $n(t) = N[1 - \int_0^t \rho(t') dt']$. In (a') und (b') ist also im wesentlichen die Verteilungsfunktion der Schwimmintervalle dargestellt. Falls $\rho(t)$ exponentiell abnimmt, verläuft auch $n(t)$ exponentiell, bzw. linear bei einer logarithmischen Skalierung der Ordinate.

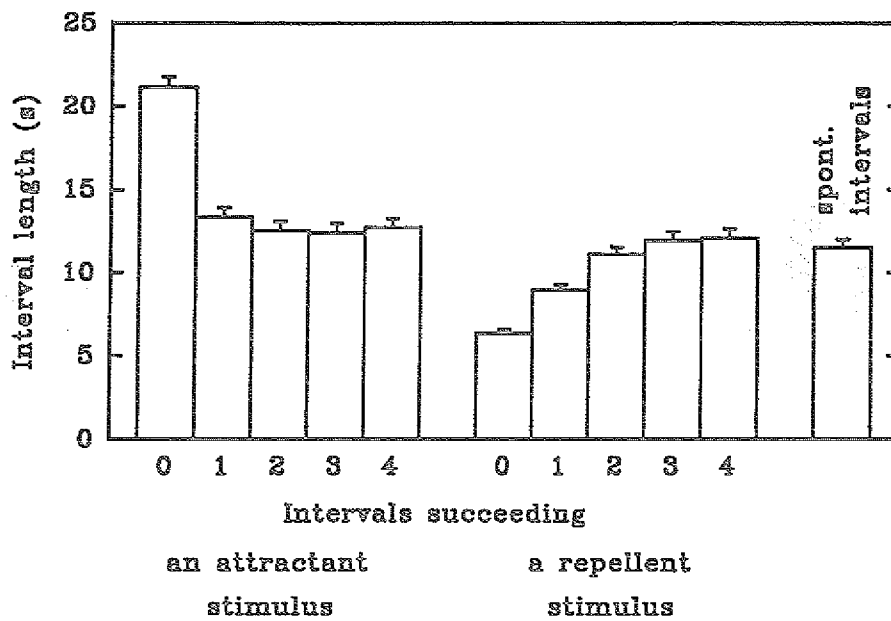


Abb. 1.2: Antwort der Bakterien auf einen stufenförmigen Attractant- bzw. Repellent-Reiz, der 2 s nach einem Umkehrereignis gegeben wurde [20]: Aufgetragen ist die Dauer des Schwimmintervalls, in das der Reiz fällt (0), und die Dauer von vier Folgeintervallen (*Mittelwert $\pm$ Standardfehler* von jeweils 100 Schwimmintervallen). Stufenförmige Att.- bzw. Rep.-Reize durch An- bzw. Ausschalten von 565 nm Reizlicht der Intensität $I = 3.7 \times 10^{13} \text{ h}\nu \text{ mm}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Hintergrundlicht: IR ($> 830 \text{ nm}$); Bakterienstamm: Flx3.

von Spontanintervallen sind typischerweise asymmetrisch und nehmen etwa ab ihrem Maximum exponentiell ab [6, 11, 19]. Dies ist unabhängig davon, ob N Messungen an einem einzelnen Bakterium oder N Messungen an verschiedenen Bakterien durchgeführt werden [7, 11]. Abb. 1.1 zeigt Beispiele von Verteilungen für die Flx3 Mutante in einem Temperaturbereich, in dem auch alle weiteren Experimente durchgeführt wurden. Bakterien des Stammes Flx3 besitzen nur die sensorischen Rhodopsine SR I und SR II. Die beiden Beispiele wurden ausgewählt, um die Variabilität der Verteilungen zu verdeutlichen. Neben Verteilungen mit einem langen, exponentiellen Schwanz (Abb. 1.1a) gibt es auch Messungen, bei denen lange Spontanintervalle relativ selten vorkommen, und deren abfallende Flanke weniger gut durch eine Exponentialfunktion beschrieben werden kann (Abb. 1.1b).

Adaptation an veränderte Lichtverhältnisse

Nach einem stufenförmigen Lichtreiz (einmaliges An- oder Ausschalten von Licht) und der dadurch verursachten Verlängerung oder Verkürzung eines Schwimmintervalls nehmen die Bakterien innerhalb weniger Schwimmintervalle wieder ihren alten Schwimmrhythmus an, d.h. sie adaptieren an veränderte Lichtverhältnisse [6, 9]. Der effektive Reiz ist die *Änderung* der Lichtintensität. Dies ist für Attractant- und Repellent-Reize in Abb. 1.2 illustriert. Aufgetragen ist die mittlere Dauer des Schwimmintervalls, in das

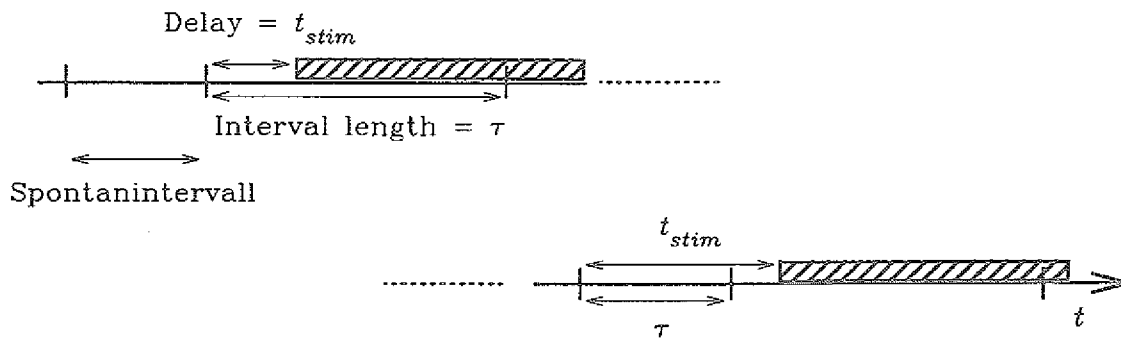


Abb. 1.3: Messung der Phasenabhängigkeit der Antworten auf einzelne Lichtreize (vgl. Text): Das auf das Referenzereignis folgenden Ereignis kann entweder *nach* dem Reiz auftreten (oberer Fall) oder *davor* (unterer Fall). Im letzteren Fall ist das gemessene Schwimmintervall ein Spontanintervall. Die senkrechten Striche markieren Umkehrereignisse, der schraffierte Balken den stufenförmigen Lichtreiz.

der Reiz fällt, und die Länge von vier darauf folgenden Intervallen. Nach Attractant-Reizen stellt sich mit dem ersten oder zweiten Folgeintervall, nach Repellent-Reizen erst mit zweiten oder dritten Folgeintervall wieder ein stationärer Schwimmrhythmus ein. Eine mögliche Interpretation ist, daß beide Reize den inneren Zustand des Systems etwa gleich lange beeinflussen; größenordnungsmäßig ungefähr für die Dauer von zwei Spontanintervallen.

Phasenabhängigkeit der Antwort auf einzelne Lichtreize

Eine interessante Frage ist, ob die Antwort der Bakterien auf stufenförmige Lichtreize davon abhängt, zu welchem Zeitpunkt innerhalb eines Schwimmintervalls, d.h. wie lange nach einem Umkehrereignis, der Reiz gegeben wird (Phasenabhängigkeit der Antwort). Dazu wird ein Umkehrereignis als Referenzereignis ausgewählt, nach verschiedenen, vorgegebenen Verzögerungszeiten t_{stim} ein Reiz ausgelöst und die Zeitdifferenz τ zu dem Umkehrereignis gemessen, das auf das Referenzereignis folgt. Dabei können prinzipiell zwei Fälle eintreten (Abb. 1.3): Das auf das Referenzereignis folgende Ereignis passiert entweder *nach* dem Reiz ($\tau > t_{stim}$) oder *davor* ($\tau < t_{stim}$), wobei im zweiten Fall ein Spontanintervall gemessen wird.

Experimente dieser Art führten zu sich teilweise widersprechenden Ergebnissen. Bei alleiniger Berücksichtigung von Schwimmintervallen, für die $\tau > t_{stim}$ ist, fanden Schimz und Hildebrand, daß der Mittelwert der Effektivität $\tau - t_{stim}$ eines Attractant-Reizes eine nicht-monotone Funktion von t_{stim} ist [6]. McCain et al. hingegen beschreiben eine konstante Effektivität [19]. Diese Kontroverse konnte von U. Krohs durch eine neue Meß- und Auswertemethode, die auf Mittelwertbildung verzichtet, gelöst werden [20]: Aus einer großen, fest vorgegebenen Menge werden die Verzögerungszeiten t_{stim} in zufälliger Reihenfolge ausgewählt und *alle* zugehörigen Schwimmintervalle einzeln aufgetragen. Die „Phasen-Antwort-Plots“, die man auf diese Weise erhält, enthalten sehr viel mehr Information als Mittelwertkurven.

In den Phasen-Antwort-Plots für Attractant-Reize, Abb. 1.4, treten zwei „Populationen“ von Meßwerten auf. Attractant-Antworten (obere Population) sind durch

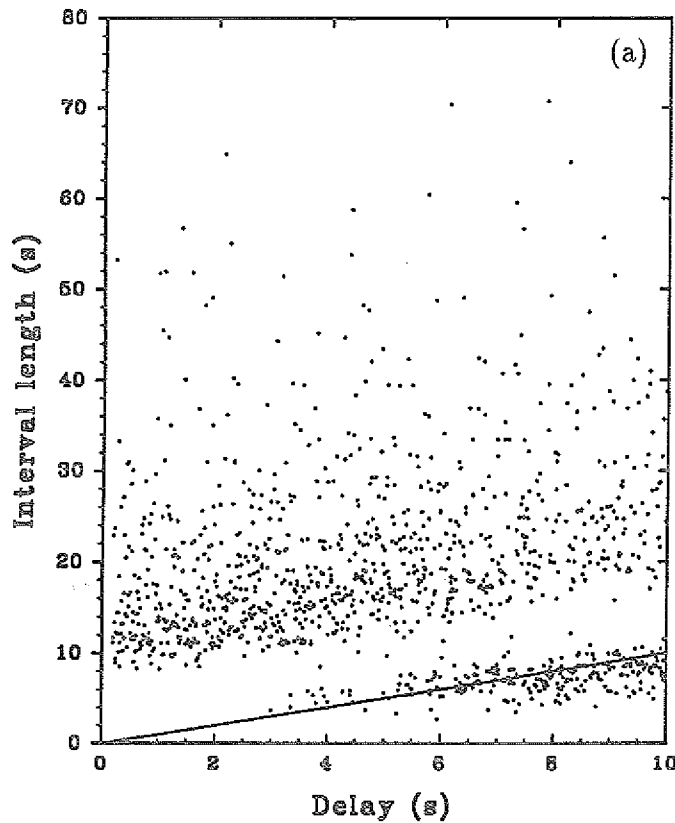
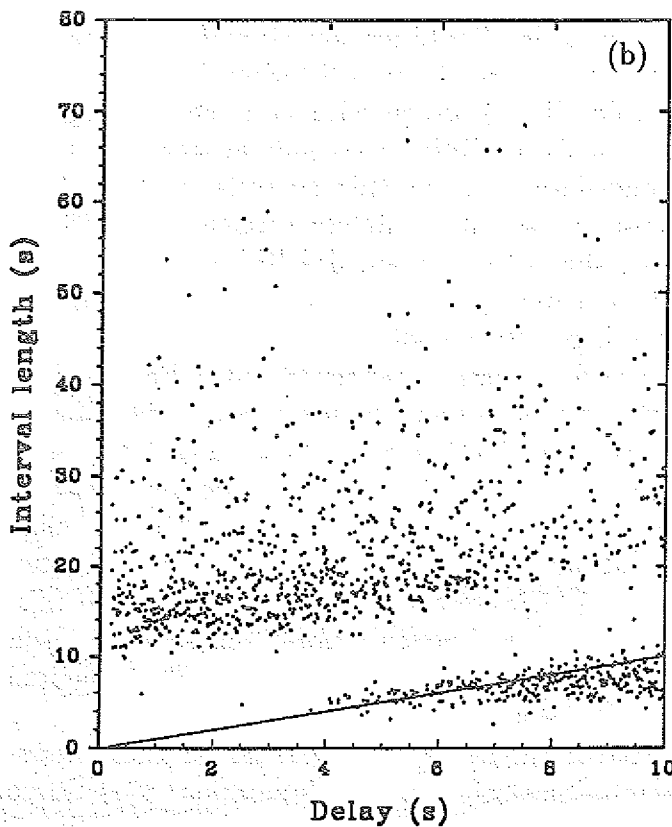


Abb. 1.4: Phasen-Antwort-Plots für Attractant-Reize [20]: zu 392 Delays im Abstand von 25 ms wurden jeweils 3 Schwimmintervalle gemessen. Die Gerade ($\tau = t_{stim}$) trennt Intervalle, bei denen das Umkehrereignis vor (unterhalb) bzw. nach dem Reiz (oberhalb) auftrat. Stufenförmige Att.-Reize durch Ausschalten von 370 nm Reizlicht der Intensität $I = 2.4 \times 10^{12} \text{ h}\nu \text{ mm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (a) $I = 1.2 \times 10^{13} \text{ h}\nu \text{ mm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (b); Hintergrundlicht: weiß, $250 \mu \text{ W mm}^{-2}$; Bakterienstamm: Flx3.



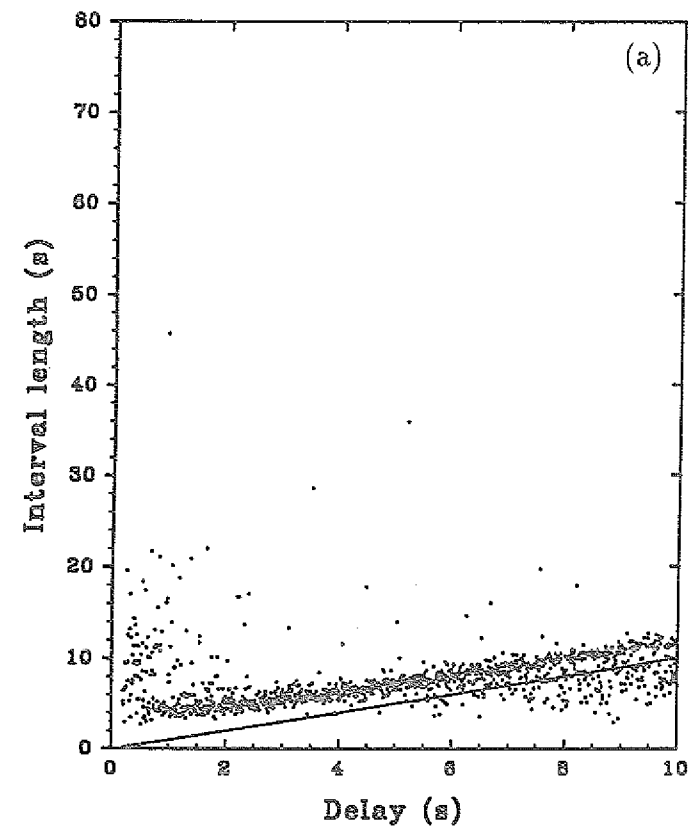
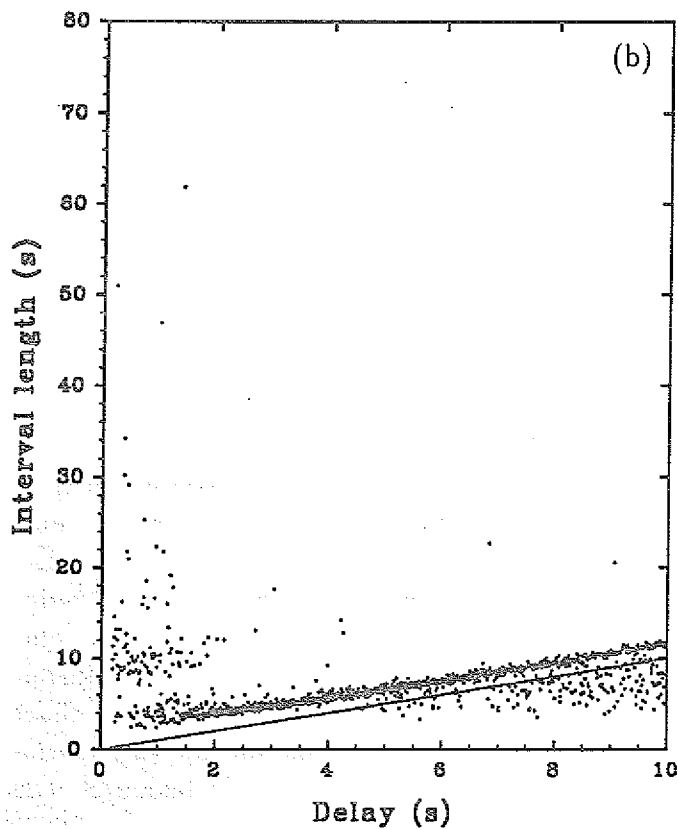


Abb. 1.5: Phasen-Antwort-Plots für Repellent-Reize [20]: zu 392 Delays im Abstand von 25 ms wurden jeweils 3 Schwimmintervalle gemessen. Die Gerade ($\tau = t_{stim}$) trennt Intervalle, bei denen das Umkehrereignis vor (unterhalb) bzw. nach dem Reiz (oberhalb) auftrat. Stufenförmige Rep-Reize durch Einschalten von 370 nm Reizlicht der Intensität $I = 2.4 \times 10^{12} \text{ h}\nu \text{ mm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (a), $I = 6.0 \times 10^{12} \text{ h}\nu \text{ mm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (b); Hintergrundlicht: weiß, $250 \mu \text{ W mm}^{-2}$; Bakterienstamm: Flx3.



eine deutliche Lücke von den übrigen Meßwerten getrennt. Die untere Population setzt sich sowohl aus Spontanintervallen als auch aus Intervallen zusammen, bei denen die Umkehr erst nach dem Reiz erfolgte (Meßwerte unter- und oberhalb der eingezeichneten Geraden). Offenbar führt ein Attractant-Reiz nicht in jedem Fall zu einer Unterdrückung des auf ihn folgenden Umkehrereignisses. Unabhängig vom Zeitpunkt des Reizes gilt dies für eine Zeitdifferenz von etwa 2 s zwischen Reiz und nachfolgender Umkehr. Erst dann sind Attractant-Antworten möglich, deren Effektivität umso größer ist, je stärker der Reiz ist (vgl. Abb. 1.4a und b). Eine lineare Regression dieser Antworten liefert eine Regressionsgerade mit der Steigung $m \approx 1$ [20]. Antworten auf Attractant-Reize zeigen also keine Phasenabhängigkeit.

Bei Repellent-Reizen, Abb. 1.5, wird ebenfalls beobachtet, daß Intervalle, die sich von Spontanintervallen nicht signifikant unterscheiden, bis etwa 2 s nach einem Reiz auftreten können. Danach wird für $t_{stim} \gtrsim 2$ s innerhalb kurzer Zeit ein Umkehrereignis induziert (Repellent-Antwort). Für $t_{stim} \lesssim 2$ s mißt man dagegen häufig lange Schwimmintervalle. Diese Ergebnisse sind in sehr guter Übereinstimmung mit den Mittelwertkurven für Repellent-Reize in [6] und [19]. Abgesehen von der Anfangsphase („Refraktärzeit“, [6]) zeigen auch die Antworten auf Repellent-Reize keine Phasenabhängigkeit.

Das Auftreten einer Refraktärzeit für Repellent-Reize darf nicht so verstanden werden, daß die Bakterien während dieser Zeit Reize überhaupt nicht registrieren. Dies zeigt sich zum einen darin, daß auch in der Refraktärzeit gleichzeitig oder kurz hintereinander gegebene Attractant- und Repellent-Reize verrechnet werden [21]. Zum anderen wird in den Phasen-Antwort-Plots für starke Lichtreize eine Struktur in der Refraktärzeit deutlich (Abb. 1.5b). Von induzierten Umkehrereignissen (Rep.-Antworten) durch eine Lücke abgegrenzt, gibt es eine zweite Population von Ereignissen. Eine genauere Analyse zeigt, daß die Länge dieser Schwimmintervalle gleich der Länge eines induzierten Intervalls *plus* der Länge eines auf eine Repellent-Antwort folgenden Intervalls ist [20] (*Intervall 0 + Intervall 1* in Abb. 1.2). Dieser Effekt kann so interpretiert werden, daß Prozesse, die normalerweise ein Umkehrereignis verursachen, auch während der Refraktärzeit durch Repellent-Reize beschleunigt werden, ohne jedoch in jedem Fall ein Ereignis auszulösen. Beobachtet wird in diesem Fall erst das auf ein solches, virtuelles Ereignis folgende Umkehrereignis. Die Refraktärzeit kann durch das Auftreten von „Aussetzern“ erklärt werden.

Antwort auf periodische Lichtreize

Halobakterien zeigen ein rhythmisches Schwimmverhalten mit einer bevorzugten Umkehrfrequenz. Es liegt nahe, dies als oszillatorisches Verhalten zu interpretieren und die Frage zu stellen, ob bei einer periodischen Stimulierung der Bakterien ähnliche Effekte auftreten wie bei anderen (nichtlinearen) Oszillatoren; z.B. Entrainment (Modelllocking), d.h. eine Phasenkopplung zwischen dem periodischen Reiz und dem Schwimmrhythmus. Experimente dieser Art wurden von Schimz und Hildebrand mit stufenförmigen Lichtreizen [22, 23] und von Lucia et al. mit sinusförmigen Lichtreizen durchgeführt [24, 25]. Dabei ist zu beachten, daß eine periodische Zu- und Abnahme der Reizlichtintensität eine alternierende Folge von Repellent- und Attractant-Reizen bedeutet. Die

Reize löschen sich jedoch nicht gegenseitig aus [21]. Bei den Experimenten wurden möglichst viele *aufeinanderfolgende* Schwimmintervalle eines einzelnen Bakteriums gemessen. Man erhält so eine Folge von Intervallen, $\tau_1, \tau_2, \dots, \tau_n, \tau_{n+1}, \dots$. Hinweise auf Korrelationen zwischen unmittelbar aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen können in einfacher Weise durch Auftragung von τ_{n+1} gegen τ_n , $n = 1, 2, \dots$, gewonnen werden („Next-period-Plots“).

Die Intervallsequenzen und Next-period-Plots in Abb. 1.6 sind Ergebnis von Experimenten mit periodischen UV-Lichtpulsen von 1.5 s Länge, wobei die Periodenlänge der Stimulierung durch den Abstand der Pulse variiert wurde [23]. Periodische Lichtreize führen zu einem Entrainment der Schwimmintervalle (die Umkehrfrequenz der Bakterien paßt sich der Reizfrequenz an), verbunden mit einer deutlichen Reduktion der Streuung (Abb. 1.6 a', b'). Bei zunehmender Reizfrequenz taucht in den Next-period-Plots eine zunehmende Anzahl von Flecken bei ganzzahligen Vielfachen der Reizfrequenz auf (Abb. 1.6c'–e'). Dies entspricht einer Aufspaltung des Maximums der Spontanintervallverteilung in mehrere äquidistante Maxima (Abb. 1.7 zeigt eine Beispiel für sinusförmige Lichtreize.). Für hohe Reizfrequenzen verschiebt sich das Hauptmaximum der Verteilung von der einfachen zur doppelten Reizperiode (Abb. 1.6f'). Bei einer noch höheren Reizfrequenz löst sich das Punktmuster auf, und es entstehen komplexere Strukturen (Abb. 1.6g').

Das Entrainment und die Entstehung von Intervallverteilungen mit mehreren äquidistanten Maxima sind gut reproduzierbar und auch für Antworten auf sinusförmige Lichtreize charakteristisch [25]. Details hängen jedoch stark von den Reizbedingungen ab (vgl. Abb. 1.6a–g und h–o). Dies betrifft z.B. die teilweise beobachteten, deutlichen Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Intervallen (Abb. 1.6d) und das Auftreten komplexerer Strukturen in den Next-period-Plots. Ähnliche Effekte wie bei periodischen Lichtreizen wurden auch bei Antworten auf zeitliche Lichtgradienten gemessen [26]. In beiden Fällen wurde als Erklärung vorgeschlagen, daß das System eine Folge von Bifurkationen durchläuft, eventuell mit dem Übergang zu chaotischer Bewegung [23, 26].

Bei sinusförmigen Lichtreizen wurde von Lucia et al. auch gemessen, bei welcher Phase der Stimulierung Umkehrereignisse auftreten [24, 25]. Findet zum Zeitpunkt t^* ein Umkehrereignis statt, ist die zugehörige Phase θ des Reizes

$$\theta(t^*) = \left(\frac{2\pi t^*}{T} + \theta_0 \right) \bmod 2\pi, \quad (1.1)$$

wobei T die Reizperiode ist. Eine typische, unimodale Verteilung für θ ist in Abb. 1.7b gezeigt. Lucia et al. haben Phasenverteilungen für verschiedenen Reizperioden bestimmt und zwischen der Maximumstelle der Verteilung, θ_{max} , und der Reizperiode den Zusammenhang

$$\theta_{max} \sim T^{-1} \quad (1.2)$$

gefunden (Abb. 1.7). Dies bedeutet, daß Umkehrereignisse bevorzugt mit einer festen Verzögerung Δt nach dem Zeitpunkt, zu dem $\theta = 0$ ist, auftreten. Geht man davon aus, daß die maximale, positive Änderung der Lichtintensität bei $\theta = 0$ der effektive Repellent-Reiz ist, könnte diese Verzögerung Δt dieselbe Ursache haben wie das

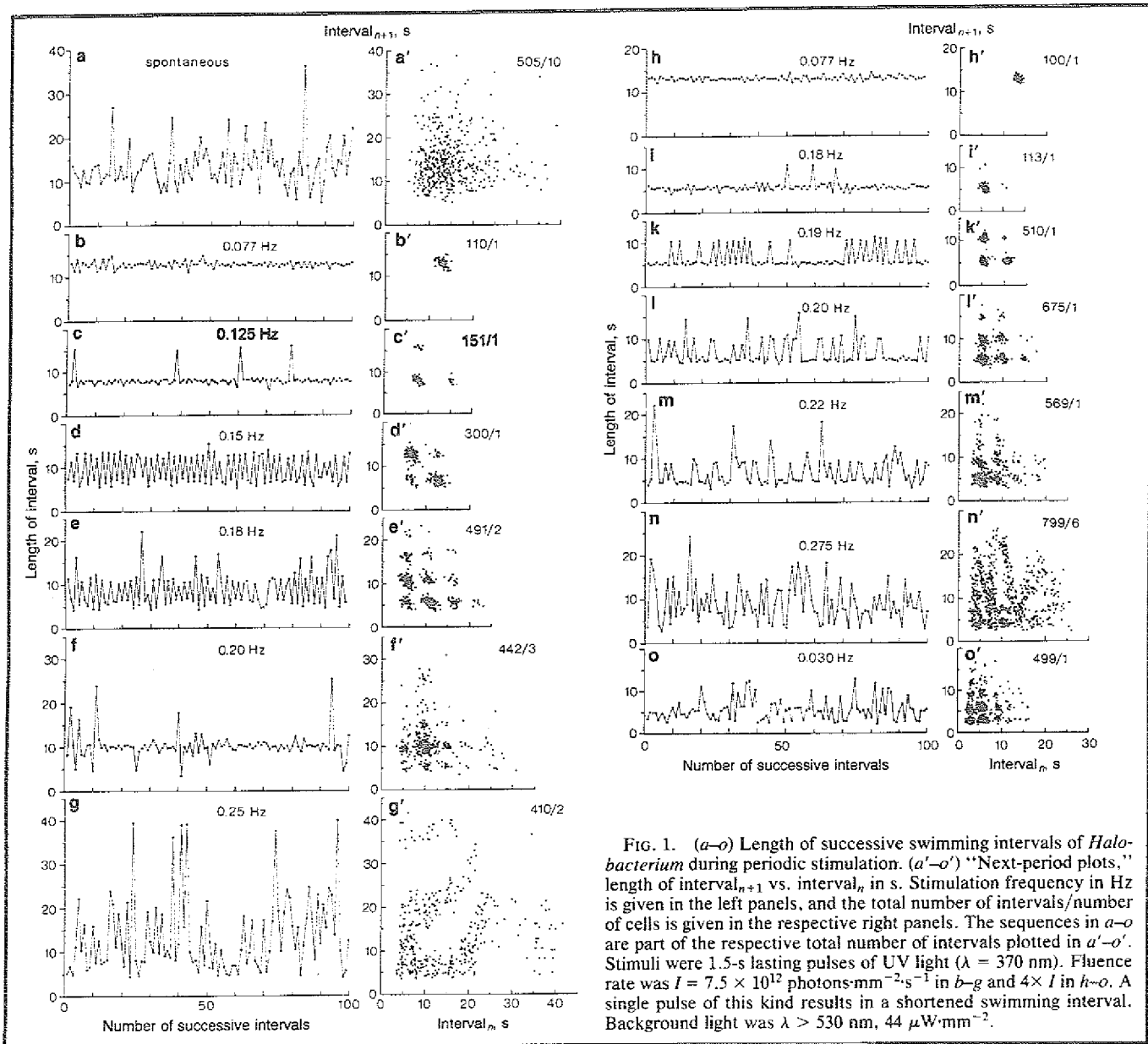


FIG. 1. (a-o) Length of successive swimming intervals of *Halo-bacterium* during periodic stimulation. (a'-o') "Next-period plots," length of interval_{n+1} vs. interval_n in s. Stimulation frequency in Hz is given in the left panels, and the total number of intervals/number of cells is given in the respective right panels. The sequences in a-o are part of the respective total number of intervals plotted in a'-o'. Stimuli were 1.5-s lasting pulses of UV light ($\lambda = 370$ nm). Fluence rate was $I = 7.5 \times 10^{12}$ photons $\cdot$ mm $^{-2}$ $\cdot$ s $^{-1}$ in b-g and $4 \times I$ in h-o. A single pulse of this kind results in a shortened swimming interval. Background light was $\lambda > 530$ nm, 44μ W $\cdot$ mm $^{-2}$.

Abb. 1.6: Antwort auf periodische Lichtreize [23]: Dargestellt ist jeweils eine Sequenz aufeinanderfolgender Schwimmintervalle (τ_n gegen n) und der zugehörige Next-period-Plot (τ_{n+1} gegen τ_n) für unterschiedliche Stimulierungsfrequenzen und Reizlichtintensitäten (siehe Originalbildunterschrift). Bakterienstamm: WS („wildtype“ strain).

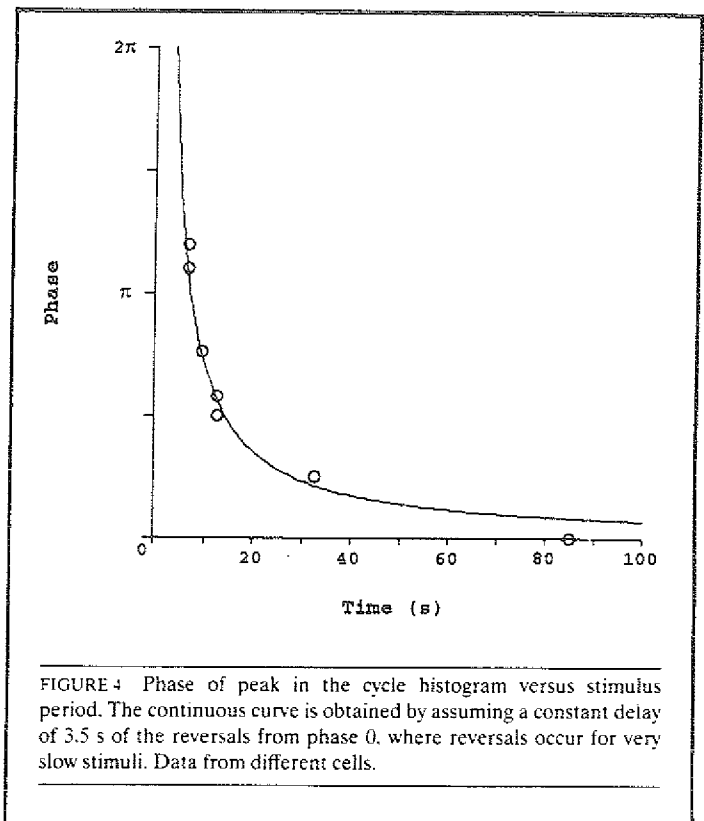
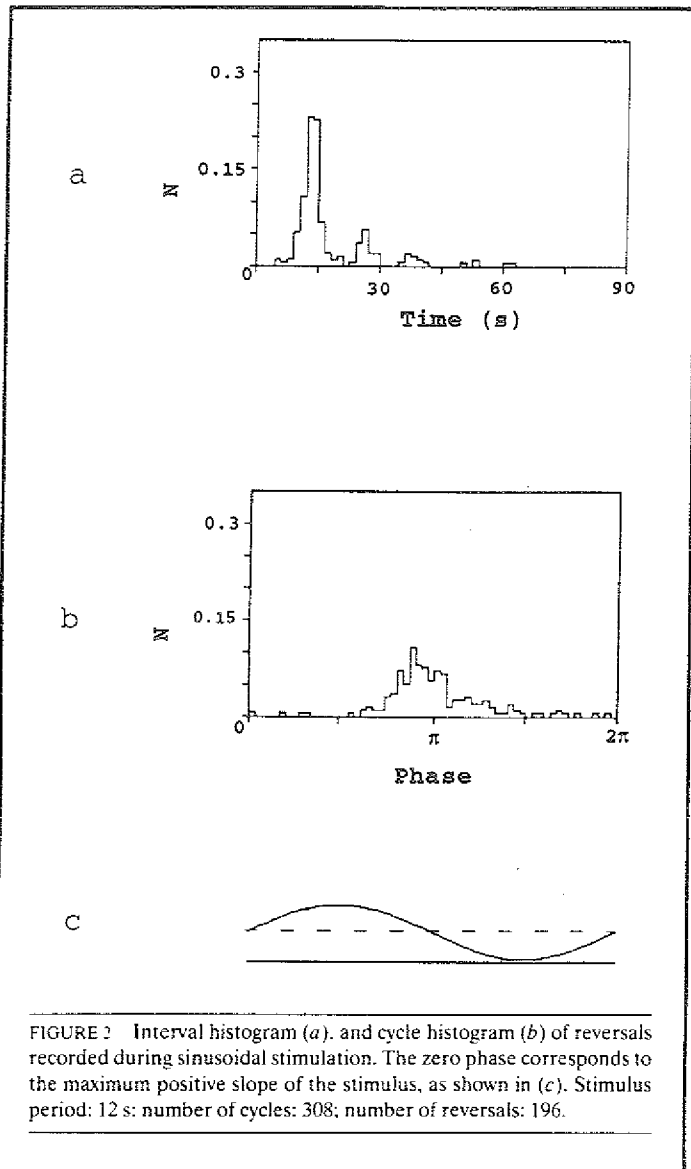


FIGURE 2 Interval histogram (a), and cycle histogram (b) of reversals recorded during sinusoidal stimulation. The zero phase corresponds to the maximum positive slope of the stimulus, as shown in (c). Stimulus period: 12 s; number of cycles: 308; number of reversals: 196.

FIGURE 4 Phase of peak in the cycle histogram versus stimulus period. The continuous curve is obtained by assuming a constant delay of 3.5 s of the reversals from phase 0, where reversals occur for very slow stimuli. Data from different cells.

Abb. 1.7: Linkes Bild [25]: Häufigkeitsverteilungen der Länge von Schwimmintervallen bei sinusförmigen Lichtreizen (a), der Phase θ des Lichtreizes, bei der die Umkehrereignisse auftreten (b), und die Phasenlage des Reizes (c). Periode T der Stimulierung: 12 s. Rechtes Bild [25]: Abhängigkeit der Phase des Lichtreizes, bei der bevorzugt Umkehrereignisse auftreten (Maximum der jeweiligen Phasenverteilung), von der Periode des Reizes. Die durchgezogene Kurve ist $\theta = (2\pi/T)\Delta t$ mit $\Delta t = 3.5$ s. Reizlicht: 400 nm mit maximaler Intensität $I_{max} = 6.0 \times 10^{13} \text{ h}\nu \text{ mm}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Bakterienstamm: Flx 15 (entspricht etwa Flx3).

Auftreten von Intervallen nach einem einzelnen Repellent-Reiz, die sich von Spontanintervallen nicht signifikant unterscheiden (vgl. Abb. 1.5). Der Effekt stimmt auch größenordnungsmäßig etwa überein ($\Delta t = 3.5$ s im Vergleich zu 2 s), falls Reaktionen auf stufenförmige und kontinuierliche Änderungen der Lichtintensität überhaupt in dieser Weise verglichen werden können.

Behandlung der Bakterien mit IBMX

IBMX² ist eine Substanz, die in eukaryotischen Zellen Phosphodiesterasen hemmt [27] und somit z.B. den cGMP-Spiegel in der Zelle erhöht. Gibt man einer Suspension von Halobakterien IBMX in unterschiedlichen Konzentrationen bei, führt das auf eine ähnliche Folge von Next-period-Plots wie bei der Stimulierung mit periodischen Reizen (Abb. 1.8, [23]): Reduktion der Streuung der Schwimmintervalle bei niedrigen Konzentrationen von IBMX (Abb. 1.8a',b'); Verschiebung der Schwimmintervalle zu niedrigeren Werten und Entstehung von Punktmustern bei Erhöhung der IBMX-Konzentration (Abb. 1.8c',d'); und schließlich Auflösung des Musters in eine komplexere Struktur (Abb. 1.8e'). Diese Messungen zeigen auch, daß die Wirkung von IBMX über viele Schwimmintervalle anhält. Es erfolgt keine Adaptation.

1.1.2 Mikroskopische Mechanismen

Über die biochemischen Mechanismen der Signaltransduktion in Halobakterien ist zur Zeit nur wenig bekannt, und es ergibt sich bis jetzt kein geschlossenes Bild. Einige Aspekte sollen hier stichpunktartig genannt werden:

- Eine Änderung des Membranpotentials infolge einer Aktivierung der sensorischen Rhodopsine ist wahrscheinlich an der Signaltransduktion unbeteiligt [28]. Man muß stattdessen davon ausgehen, daß die Transduktion über eine intrazelluläre Signalkette passiert, bei der möglicherweise cGMP und Ca^{2+} eine Rolle spielen [29].
- Fumarat oder ein fumaratähnliches Molekül ist für Schaltvorgänge des Geißelmotors notwendig [30, 31].
- Durch Verhaltensexperimente wurde nachgewiesen, daß Halobakterien Lichtreize unterschiedlichen Vorzeichens sowie Licht- und chemische Reize miteinander verrechnen [9, 21].
- Wie bei Eubakterien, beobachtet man auch bei Halobakterien eine reizabhängige Methylierung und Demethylierung von Proteinen [32–35]. Die Methylierungsprozesse werden dabei durch bereits miteinander verrechnete Reize reguliert [36]. Sie spielen sehr wahrscheinlich bei der Adaptation eine wichtige Rolle.
- In Zusammenhang mit den beiden letzten Punkte wird angenommen, daß die Signale von den verschiedenen Rezeptoren zusammenkommen bevor der Schaltvorgang des Geißelmotors beeinflußt wird [21, 36]. Gestützt wird diese Annahme auch durch die obige Interpretation der Refraktärzeit für Repellent-Reize.

²IBMX: 3-isobutyl-1-methylxanthine.

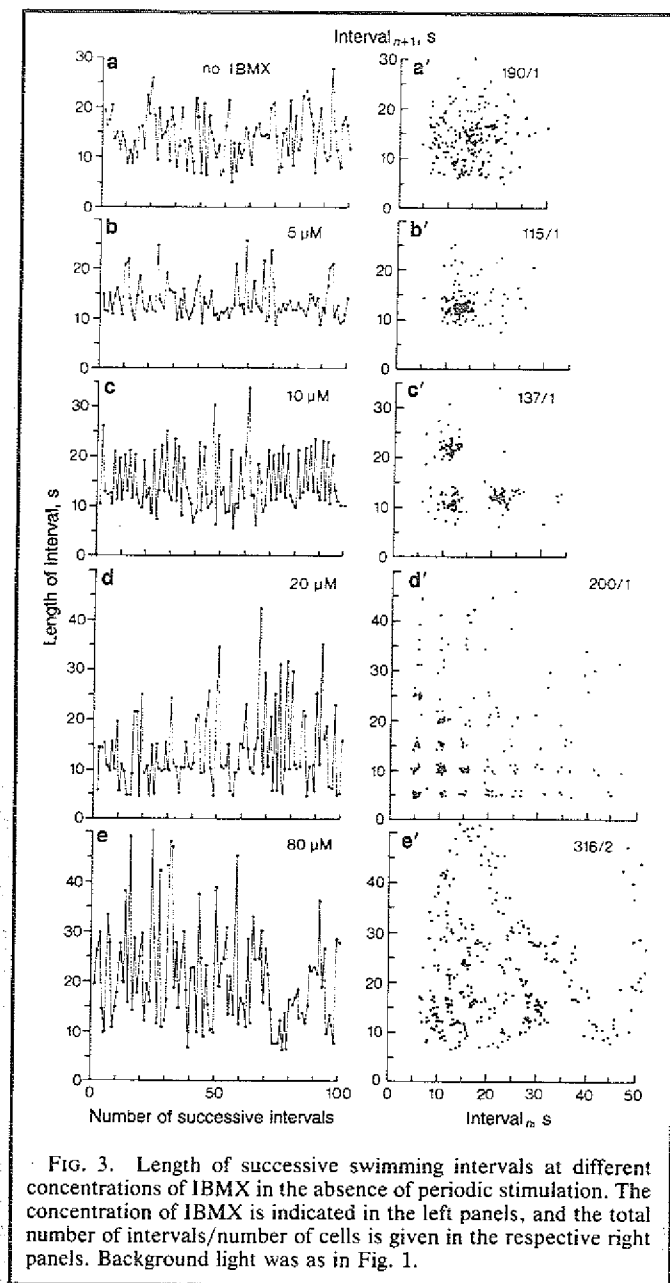


Abb. 1.8: Länge aufeinanderfolgender Schwimmintervalle bei verschiedenen Konzentrationen von IBMX *ohne* periodische Stimulierung [23]: Darstellung der Daten, Hintergrundlicht und Bakterienstamm wie in Abb. 1.6.

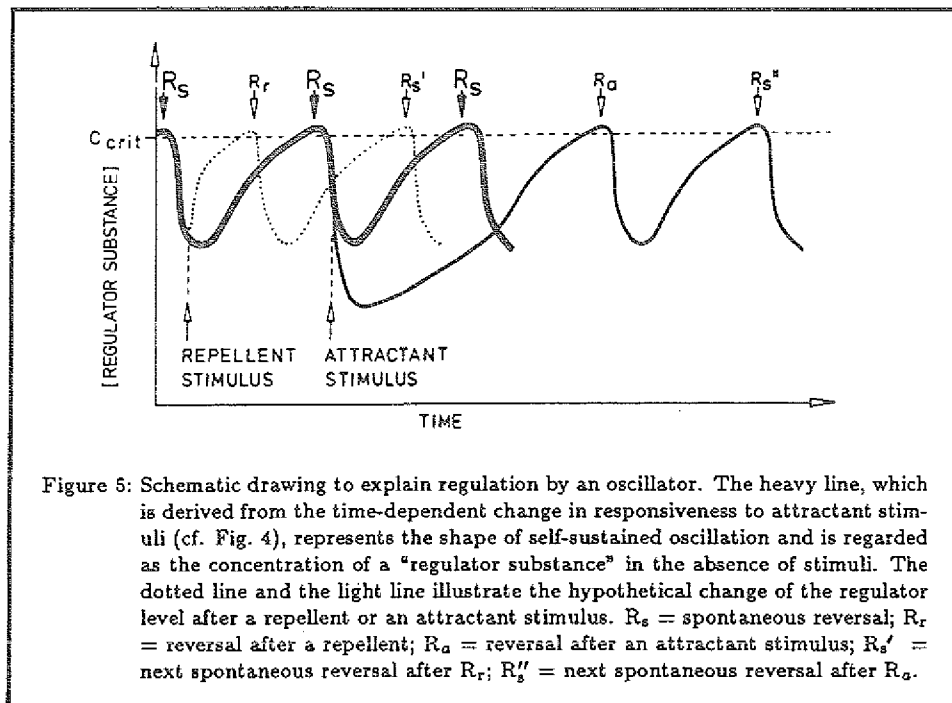


Figure 5: Schematic drawing to explain regulation by an oscillator. The heavy line, which is derived from the time-dependent change in responsiveness to attractant stimuli (cf. Fig. 4), represents the shape of self-sustained oscillation and is regarded as the concentration of a "regulator substance" in the absence of stimuli. The dotted line and the light line illustrate the hypothetical change of the regulator level after a repellent or an attractant stimulus. R_s = spontaneous reversal; R_r = reversal after a repellent; R_a = reversal after an attractant stimulus; R_s' = next spontaneous reversal after R_r ; R_s'' = next spontaneous reversal after R_a .

Abb. 1.9: Die Oszillatorhypothese von Schimz und Hildebrand (aus [7]).

Zur Regulation des Schaltvorgangs des Geißelmotors existieren in der Literatur drei Hypothesen [6, 11, 19], von denen bisher keine experimentell belegt oder widerlegt werden konnte. Zwei dieser Mechanismen sind Ausgangspunkte für die in dieser Arbeit formulierten Modellansätze zum Verständnis des Schwimmverhaltens von Halobakterien³. Sie gehen beide von einer parametrischen Einkopplung von Reizen aus. Es wird angenommen (siehe oben), daß Rezeption, Verrechnung und Adaptation auf der einen Seite und die Regulation des Schaltvorgangs auf der anderen Seite getrennte Vorgänge sind.

A. Schimz und E. Hildebrand (1985)

Schimz und Hildebrand postulieren die Existenz eines intrazellulären, biochemischen Oszillators zur Regulation des Schaltvorgangs [6]. Dabei wird immer dann ein Umkehrereignis ausgelöst, wenn die Konzentration y einer oszillierenden Substanz Y eine kritische Schwelle c_{crit} überschreitet (Abb. 1.9). Lichtreize bewirken eine vorübergehende Beschleunigung oder Verlangsamung der Oszillation und damit die Verlängerung oder Verkürzung von Schwimmintervallen.

Die Befunde und Interpretationen, die ursprünglich zur Formulierung dieser Hypothese führten, konnten nach neueren Untersuchungen [20] nicht bestätigt werden. Der Oszillatorsatz ist jedoch nach wie vor naheliegend zur Erklärung des rhythmischen Schwimmverhaltens der Bakterien.

³Die Hypothesen von Marwan und Oesterhelt [11] und McCain et al. [19] beruhen auf derselben Idee. Ich folge in dieser Arbeit dem präziser formulierten Ansatz.

D. A. McCain, L. A. Amici und J. L. Spudich (1987)

McCain et al. nehmen an, daß der „Schalter“ des Geißelmotors in drei Zuständen vorkommen kann, die mit unterschiedlicher Wahrscheinlichkeit ein Umkehrereignis auslösen können [19]. Ausgehend von der exponentiell abfallenden Flanke der Spontanintervallverteilungen, ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Übergang zwischen einem „non-reversing state“ N und einem „reversing state“ R, der mit einer konstanten Übergangswahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit passiert. Befindet sich der Schalter im Zustand R, wird ein Umkehrereignis ausgelöst. Danach wechselt der Schalter über einen inaktiven Zwischenzustand I wieder in den Zustand N. Der Zwischenzustand wurde eingeführt, um die geringe Wahrscheinlichkeit für das Auftreten kurzer Schwimmintervalle zu erklären. Für den Übergang zwischen den Zuständen CW und CCW bzw. CCW und CW des Geißelmotors⁴ ergibt sich damit das folgende Schema:

$$\dots \rightarrow \boxed{\text{I/CW}} \rightarrow \boxed{\text{N/CW}} \rightarrow \boxed{\text{R/CW}} \rightarrow \boxed{\text{I/CCW}} \rightarrow \dots \quad (1.3)$$

Lichtreize verändern in diesem Modell transient die Übergangsrate zwischen den Zuständen N und R.

1.2 Vorbemerkungen zur Modellbildung

In dieser Arbeit sollen mit theoretischen Methoden Antworten auf die folgenden Fragen gefunden werden: Wie kann die charakteristische Struktur der Verteilung spontaner Schwimmintervalle verstanden werden? Wie lassen sich die Strukturen in den Phasen-Antwort-Plots für einzelne Lichtreize erklären? Wie kommen die in den Experimenten mit periodischen Lichtreizen oder IBMX beobachteten, zeitlichen Strukturen zustande? Den größten Teil der Arbeit nimmt dabei die Oszillatorhypothese ein. Bevor jedoch die Modelle im einzelnen dargestellt werden, müssen einige grundsätzliche Bemerkungen gemacht werden, die die Aussagefähigkeit solcher Modelle und die verwendeten physikalischen Konzepte betreffen.

1.2.1 Aussagefähigkeit der Modelle

Über die Signaltransduktion in Halobakterien ist zur Zeit so wenig bekannt, so daß die biochemischen Grundlagen für ein „realistisches“ Modell fehlen. Ausgangspunkte für die Modellbildung sind daher die im vorigen Abschnitt zitierten Hypothesen zu möglichen mikroskopischen Mechanismen der Signaltransduktion. Es sollen einfache Ansätze formuliert werden, die (bio)chemischen Prinzipien nicht widersprechen, aber auch auf biochemische Spekulationen verzichten. Auf diese Weise hat man die Möglichkeit, die Eignung verschiedener Konzepte zur Erklärung des Schwimmverhaltens von Halobakterien zu untersuchen, kann jedoch nicht erwarten, die physiologischen Messungen auch quantitativ zu beschreiben. Wegen der mangelnden Kenntnis der Signalkette ist der Versuch einer quantitativen Beschreibung auch nicht sinnvoll, da Variablen des

⁴Gängiger Praxis folgend, wird im weiteren der Zustand, in dem die Geißeln im bzw. gegen den Uhrzeigersinn rotieren, mit CW (clockwise) bzw. CCW (counterclockwise) bezeichnet.

Modells mit Substanzen, die tatsächlich eine Rolle bei der Signaltransduktion spielen, nicht identifiziert werden können und damit auch experimentelle Werte für Modellparameter fehlen.

1.2.2 Physikalische Konzepte

In einem Modell in Anlehnung an den von Schimz und Hildebrand vorgeschlagenen Oszillatormechanismus [6] wird die Dynamik eines chemischen Reaktionssystems betrachtet. Die geringe Größe der Halobakterien hat dabei zwei Konsequenzen für die Wahl der physikalischen Konzepte zur Beschreibung der ablaufenden Prozesse.

Fluktuationen der Teilchenzahl: Sei n die typische Anzahl der Teilchen einer Substanz, die an dem Reaktionssystem beteiligt ist. Für die Frage, ob zur Beschreibung der Dynamik des Systems ein deterministischer oder stochastischer Ansatz angemessen ist, ist die Größe der relativen Fluktuationen von n entscheidend. Van Kampens Entwicklung der Master-Gleichung nach der Systemgröße ([37], Kap. IX) zeigt, daß diese proportional zu $1/\sqrt{n}$ sind.

Da wir an der Dynamik von Vorgängen auf zellulärer Ebene interessiert sind, ist das relevante Systemvolumen von der Größenordnung des Volumens von Halobakterien. Dies beträgt etwa $1\mu\text{m}^3 = 10^{-15}\text{l}$ [38]. Mit einer Konzentration von typischerweise $\mu\text{mol/l}$ für Substanzen mit Kontroll- oder Triggerfunktion in sensorischen Systemen läßt sich die Teilchenzahl einer einzelnen Substanz durch 10^2 – 10^3 abschätzen und damit die Größe der relativen Fluktuationen durch etwa 10^{-1} . Diese Abschätzung paßt z.B. zu Messungen von Marwan et al., die die Anzahl freier Fumarat-Moleküle⁵ pro Zelle mit ~ 50 angeben [30]. Fluktuationen der Teilchenzahl können daher nicht vernachlässigt werden und sind ein wesentlicher Bestandteil der Dynamik des Systems.

Zeitskala der Diffusion: Die Zeit t , die ein Teilchen benötigt, um eine Strecke x durch Diffusion zurückzulegen, kann mit Hilfe der Einstein-Relation

$$\langle x^2 \rangle = 2Dt \quad (1.4)$$

für das mittlere Verschiebungsquadrat bei einer eindimensionalen Brownschen Bewegung (siehe z.B. [39], Kap. 1) abgeschätzt werden.

Die Diffusionskonstante D ist für Ionen oder kleine Moleküle in wässriger Lösung von der Größenordnung $5 \cdot 10^{-6}\text{cm}^2/\text{s}$ [40]. Damit ergibt sich mit $\langle x^2 \rangle \approx \langle x \rangle^2 \approx 25\mu\text{m}^2$ (Länge von Halobakterien $\approx 5\mu\text{m}$ [38]) als Zeitskala, auf der die Diffusion in Halobakterien stattfindet, $t \approx 10^{-2}\text{s}$. Die für das Schwimmverhalten relevante Zeitskala liegt jedoch im Sekundenbereich, so daß die Diffusion hier kein geschwindigkeitsbestimmender Faktor sein kann.

Dem von McCain et al. vorgeschlagenen Mechanismus [19] liegt die Vorstellung zugrunde, daß zwischen zwei Umkehrereignissen eine definierte Folge weniger Zustände

⁵Fumarat oder ein fumaratähnliches Molekül ist für Schaltvorgänge des Geißelmotors notwendig [30, 31].

durchlaufen wird. Er beinhaltet schon von der Idee her Fluktuationen der Verweildauer in den einzelnen Zuständen.

Die Konsequenz dieser Überlegungen ist, daß bei beiden Ansätzen die zeitliche Entwicklung des Systems als stochastischer Prozeß aufzufassen ist. Dabei kann im Fall des Oszillatormechanismus räumliche Homogenität angenommen werden.

Schwimmintervallverteilungen als First-passage-time-Verteilungen

Die experimentell zugängliche und für Modellbetrachtungen interessante Meßgröße ist die Zeit, die zwischen zwei Umkehrereignissen, charakterisiert durch eine Änderung der Geißeldrehrichtung, vergeht. Im Rahmen stochastischer Prozesse können dann Verteilungen von Schwimmintervallen⁶ als *First-passage-time-Verteilungen* (fpt-Verteilungen) für die Übergänge $CW \rightarrow CCW$ und $CCW \rightarrow CW$ aufgefaßt werden. Da sich die Verteilungen für beide Übergänge experimentell nicht unterscheiden, werden diese als symmetrisch angenommen. CW und CCW können also in dieser Arbeit immer gegeneinander ausgetauscht werden.

Bezeichnen wir, ausgehend von $CW(CCW)$ zur Zeit $t = 0$, mit τ die Zeit, zu der der Zustand $CCW(CW)$ zum *ersten* Mal erreicht wird, so ist die fpt-Verteilung $\rho_\tau(t)$ durch

$$\int_0^t \rho_\tau(t') dt' = W\{\tau \leq t\} \quad (1.5)$$

definiert⁷. Kurz gefaßt sieht das Programm für die folgenden Kapitel dann so aus, in geeigneter Weise Zustände CW und CCW auf Modellebene zu definieren und $\rho_\tau(t)$ entweder direkt oder durch Betrachtung vieler Realisationen des stochastischen Prozesses zu berechnen. Dabei entspricht im letzteren Fall das Vorgehen genau dem experimentellen.

⁶Damit sind sowohl Häufigkeitsverteilungen als auch Next-period-Plots und Phasen-Antwort-Plots gemeint.

⁷ $W\{A\}$ bezeichnet die Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses A .

Kapitel 2

Das Zwei-Zustands-Modell

Das Zwei-Zustands-Modell ist ein phänomenologisches Modell für das Schwimmverhalten von Halobakterien, das zunächst keine Annahmen über einen mikroskopischen Mechanismus macht. Es betrachtet zufällige Übergänge zwischen den Zuständen CW und CCW und entspricht insofern dem McCain et al. vorgeschlagenen Mechanismus [19], ohne jedoch einen Zwischenzustand einzuführen. Die Annahme, daß das Schwimmverhalten von Halobakterien durch First-passage-time-Verteilungen beschrieben werden kann, wird durch Einführung einer zeitabhängigen Übergangswahrscheinlichkeit zwischen den Zuständen CW und CCW in eine äquivalente Form gebracht, die auf einfache Weise eine Beschreibung des Verhaltens der Bakterien bei Lichtreizen erlaubt.

2.1 Allgemeines Konzept

Das Zwei-Zustands-Modell besteht lediglich aus einer einzigen „Reaktion“, bei der die gesamte Information über das System phänomenologisch in der „Reaktionsrate“ zusammengefaßt wird:



mit der *Übergangswahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit* $w(a)$, wobei a das „Alter“ des jeweils besetzten Zustands ist. $w(a)$ soll den experimentellen Ergebnissen gemäß für Hin- und Rückreaktion gleich sein. Es wird so interpretiert, daß, für ein kleines Δt , $w(t)\Delta t$ die Wahrscheinlichkeit für einen Übergang im Zeitintervall $[t, t + \Delta t]$ ist, falls der vorherige Übergang bei $t = 0$ erfolgte (in diesem Fall gilt $a = t$).

Die zeitliche Entwicklung des Systems wird durch einen *nicht*-Markoffschen stochastischen Prozeß beschrieben, da die Übergangswahrscheinlichkeit zum Zeitpunkt t von der gesamten Vorgeschichte des Systems abhängig ist. Eine Beschreibung ist z.B. durch eine altersabhängige Master-Gleichung möglich [41]. Wir brauchen jedoch im folgenden nicht auf diesen Ansatz zurückzugreifen, da zur Bestimmung von fpt-Verteilungen nur ein einziger Übergang betrachtet wird.

2.1.1 Die First-passage-time-Verteilung

Um bei der Berechnung von fpt-Verteilungen sicherzustellen, daß man nur Zeiten berücksichtigt, bei denen der Zielzustand zum *ersten* Mal erreicht wird, wird dieser *absorbierend* gemacht. D.h., man läßt nur Übergänge zu, die in ihn hinein, aber nicht aus ihm heraus führen. Gleichung (2.1) wird deswegen durch

$$CW \xrightarrow{w(a)} CCW \quad (2.2)$$

ersetzt. Startet man zur Zeit $t = 0$ im Zustand CW, ist sein Alter a mit t identisch. Die zeitliche Entwicklung kann dann durch eine gewöhnliche Master-Gleichung für die Wahrscheinlichkeit $p_{cw}(t)$ bzw. $p_{ccw}(t)$, zur Zeit $t \geq 0$ den Zustand CW bzw. CCW zu finden, beschrieben werden¹ [37]:

$$\dot{p}_{cw} = -w(t)p_{cw} \quad (2.3-a)$$

$$\dot{p}_{ccw} = w(t)p_{cw} \quad (2.3-b)$$

$$p_{cw}(0) = 1 \quad (2.3-c)$$

$$p_{ccw}(0) = 0 \quad (2.3-d)$$

Dieses Gleichungssystem wird durch

$$p_{cw}(t) = \exp \left\{ - \int_0^t w(t') dt' \right\}, \quad p_{ccw}(t) = 1 - p_{cw}(t) \quad (2.4)$$

gelöst.

Da der Zustand CCW absorbierend ist, gilt für die Verteilung $\rho(t)$ der First-passage-time τ

$$\int_0^t \rho(t') dt' = W\{\tau \leq t\} = p_{ccw}(t). \quad (2.5)$$

Für ein kleines Zeitintervall Δt ist deswegen

$$\rho(t)\Delta t = W\{t \leq \tau \leq t + \Delta t\} = p_{ccw}(t + \Delta t) - p_{ccw}(t) \quad (2.6)$$

und im Limes $\Delta t \rightarrow 0$

$$\rho(t) = \dot{p}_{ccw}. \quad (2.7)$$

Mit den Gleichungen (2.3-b) und (2.4) erhalten wir damit als fpt-Verteilung für den Übergang $CW \rightarrow CCW$

$$\rho(t) = w(t) \exp \left\{ - \int_0^t w(t') dt' \right\}. \quad (2.8)$$

Diese Beziehung ist umkehrbar. Die Differentiation nach t führt auf eine Bernoullische Differentialgleichung für $w(t)$, die durch eine einfache Substitution lösbar ist [42]. Mit der Normierungsbedingung $\int_0^\infty \rho(t) dt = 1$ ergibt sich

$$w(t) = \frac{\rho(t)}{1 - \int_0^t \rho(t') dt'}. \quad (2.9)$$

¹Die Master-Gleichung in allgemeinerer Form, siehe Gl. (3.6), S. 35.

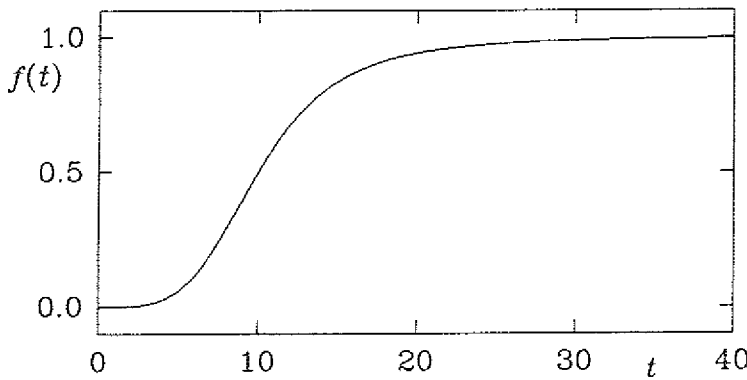


Abb. 2.1: $f(t)$ für $A = 10$ und $n = 4$.

Zu jeder Verteilung $\rho(t)$, d.h. zu jeder Schwimmintervallverteilung, läßt sich also im Prinzip ein $w(t)$ finden, so daß (2.1) einen Prozeß mit der „richtigen“ Schwimmintervallverteilung darstellt. In diesem Sinn sind die Aussagen, daß das Schwimmverhalten von Halobakterien durch eine fpt-Verteilung $\rho(t)$ oder, im Rahmen des Zwei-Zustands-Modells, durch eine zeitabhängige Übergangswahrscheinlichkeit $w(t)$ beschreibbar ist, äquivalent. Dieser Ansatz gestattet also insbesondere keine Aussagen darüber, wie Spontanintervallverteilungen der Form in Abb. 1.1 zustandekommen. Diese werden im folgenden als gegeben vorausgesetzt. Durch den Beschreibungswechsel von einer Wahrscheinlichkeitsverteilung zu einer Übergangswahrscheinlichkeit hat man jedoch die Möglichkeit, die Wirkung von Lichtreizen zu untersuchen, wenn man annimmt, daß diese letztendlich eine Veränderung von Reaktionsraten bzw. -wahrscheinlichkeiten verursachen. Diese Annahme ist plausibel und wurde auch von McCain et al. gemacht [19].

2.2 Simulation des Schwimmverhaltens

Zur Simulation des Schwimmverhaltens der Bakterien müssen wir einen Ansatz für die Funktion $w(t)$ machen². Bei einer Spontanintervallverteilung, die für kleine Zeiten verschwindet und für große Zeiten exponentiell abfällt (Abb. 1.1a), muß gelten $w(0) = 0$ und $w(t) = \text{const.}$ für $t \rightarrow \infty$. Diese Bedingungen werden z.B. durch den Ansatz

$$w(t) = kf(t), \quad k \geq 0 \quad (2.10\text{-a})$$

$$f(t) = \frac{t^n}{A^n + t^n}, \quad n \in \mathbb{N} \quad (2.10\text{-b})$$

erfüllt. $f(t)$ ist streng monoton wachsend, mit einem Wendepunkt bei $t = A$ für $n > 1$, und es gilt $0 \leq f(t) < 1$ (Abb. 2.1). Unter Berücksichtigung dieser Übergangswahrscheinlichkeit werden in den folgenden Simulationen die Zeitpunkte, zu denen ein Sprung zwischen CW und CCW stattfindet, zufällig bestimmt. Die Simulation liefert also, wie das Experiment, einzelne Schwimmzeiten. Die verwendeten Simulationsalgorithmen sind in Anhang C beschrieben.

²Eine experimentell bestimmte Übergangswahrscheinlichkeit ist in [43] gezeigt.

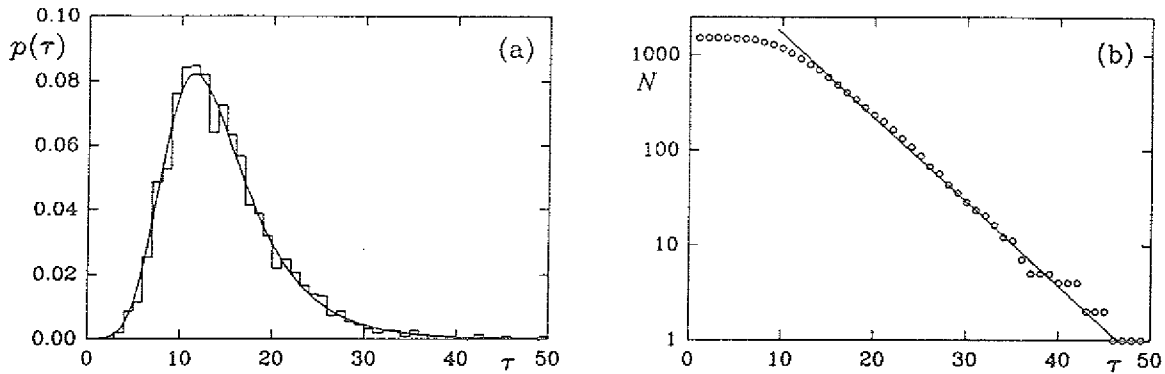


Abb. 2.2: Spontanintervallverteilung für die Standardparameter. (a): relative Häufigkeitsverteilung $p(\tau)$ für insgesamt $N_{ges} = 1500$ Schwimmintervalle. Das Histogramm ist Ergebnis einer Simulation von (2.2) unter Verwendung des Gillespie-Algorithmus. Die glatte Kurve ist die exakte fpt-Verteilung (2.11). (b): Anzahl N von N_{ges} Intervallen, die länger als τ sind. Die Punkte sind Ergebnis der Simulation. Die Gerade wurde zur Verdeutlichung des exponentiellen Verlaufs der rechten Flanke der Verteilung von Hand eingezeichnet.

2.2.1 Die Spontanintervallverteilung

Spontanintervallverteilungen entsprechen im Zwei-Zustands-Modell definitionsgemäß der fpt-Verteilung (2.8). Als Standardparameter für die Übergangswahrscheinlichkeit $w(t)$ werden wir in den folgenden Rechnungen $A = 10$, $k = 0.2$ und $n = 4$ verwenden. Diese sind so gewählt, daß die Proportionen der resultierenden fpt-Verteilung etwa denen der experimentellen Spontanintervallverteilung entsprechen (Abb. 2.2).

Nach der Festlegung von n kann das Integral in (2.8) durch Partialbruchzerlegung gelöst werden, und man erhält als fpt-Verteilung

$$\rho(t) = k \frac{t^4}{A^4 + t^4} \exp \{ -kA F(t/A) \} \quad (2.11-a)$$

$$\begin{aligned} \text{mit } F(x) &= \int_0^x \frac{s^4}{1+s^4} ds \\ &= x - \frac{\sqrt{2}}{8} \left[\ln \left(\frac{x^2 + \sqrt{2}x + 1}{x^2 - \sqrt{2}x + 1} \right) \right. \\ &\quad \left. + 2 \arctan(\sqrt{2}x + 1) + 2 \arctan(\sqrt{2}x - 1) \right]. \end{aligned} \quad (2.11-b)$$

Der Verlauf dieser Verteilung ist in Abb. 2.2a gezeigt. Von ihr ausgehend, wird in den beiden nächsten Abschnitten die Wirkung von Lichtreizen untersucht.

2.2.2 Antwort auf einzelne Lichtreize

Die Halobakterien adaptieren innerhalb eines Zeitraums, der etwa zwei Spontanintervallen entspricht, an neue Lichtverhältnisse (vgl. Kap. 1.1.1). Wir nehmen deshalb an,

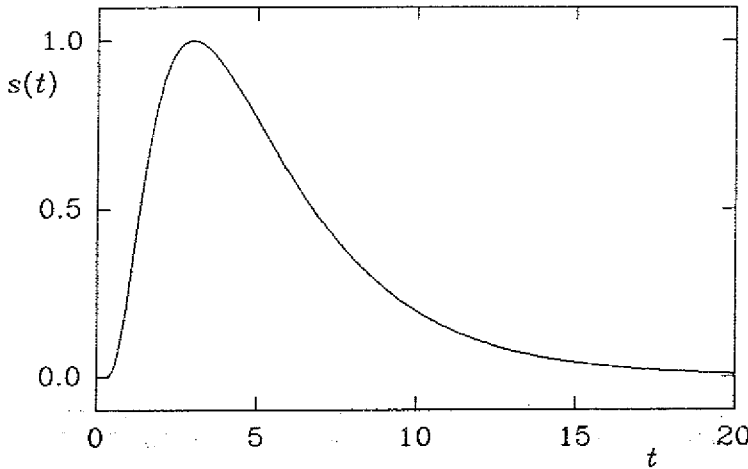


Abb. 2.3: $s(t)$ für $\sigma_l = \sigma_r = 3$, wie es für die Simulationen verwendet wurde. Den experimentellen Ergebnissen gemäß erstreckt sich $s(t)$ etwa über die Dauer von zwei Spontanintervallen.

daß ein stufenförmiger Lichtreiz den zeitlichen Verlauf von $w(t)$ *transient* verändert. Attractant-Reize, d.h. ein Schwimmintervall verlängernde Reize, müssen $w(t)$ vorübergehend erniedrigen, Repellent-Reize, d.h. ein Schwimmintervall verkürzende Reize, vorübergehend erhöhen. Als Ansatz dazu wird in Gleichung (2.10-a) der Faktor k durch einen zeitabhängigen Faktor $k_{stim}(t)$ ersetzt:

$$k_{stim}(t) = k [1 - \mu s(t)] . \quad (2.12)$$

$w(t)$ geht dann über in

$$w_{stim}(t, t_{stim}) = k_{stim}(t - t_{stim}) f(t) , \quad (2.13)$$

wobei t_{stim} den Zeitpunkt bezeichnet, zu dem der Reiz gegeben wird, bezogen auf das letzte Umkehrereignis, also $t = 0$. Diese parametrische Einkopplung der Lichtreize entspricht der Vorstellung, daß bei der Regulation der Geißeldrehrichtung keine Rückwirkung auf in der Signalkette vorhergehende Schritte stattfindet (vgl. Kap. 1.1.2).

Die Funktion $s(t)$ in Gleichung (2.12) ist als *intrazelluläre Signal* zu interpretieren, das durch einen Lichtreiz zum Zeitpunkt $t = 0$ erzeugt wird. Wir machen hierfür den phänomenologischen Ansatz

$$s(t) = \begin{cases} 0 & \text{für } t \leq 0 \\ \mathcal{N} \exp(-\sigma_l/t - t/\sigma_r) & \text{für } t > 0. \end{cases} \quad (2.14)$$

Als Normierungsfaktor wird $\mathcal{N} = \exp(2\sqrt{\sigma_l/\sigma_r})$ gewählt, so daß $0 \leq s(t) \leq 1$ ist, mit $s(\sqrt{\sigma_l\sigma_r}) = 1$ (Abb. 2.3). Die beiden Parameter σ_l und σ_r erlauben eine Beeinflussung des Anstiegs bzw. Abfalls von $s(t)$. Im weiteren Verlauf der Rechnungen wird sich zeigen, daß zu einer befriedigenden Beschreibung der Attractant-Antworten bei hoher Reizintensität die Übergangswahrscheinlichkeit über einen längeren Zeitraum sehr kleine Werte annehmen muß. Dies kann mit dem obigen Ansatz für $s(t)$ dadurch erreicht werden, daß man Gleichung (2.12) durch

$$k_{stim}(t) = \max(0, k [1 - \mu s(t)]) \quad (2.15)$$

ersetzt und $\mu > 1$ zuläßt. Abb. 2.4 zeigt typische Verläufe von $w_{stim}(t)$ nach Applikation eines Repellent- oder Attractant-Reizes im Vergleich zum spontanen Fall.

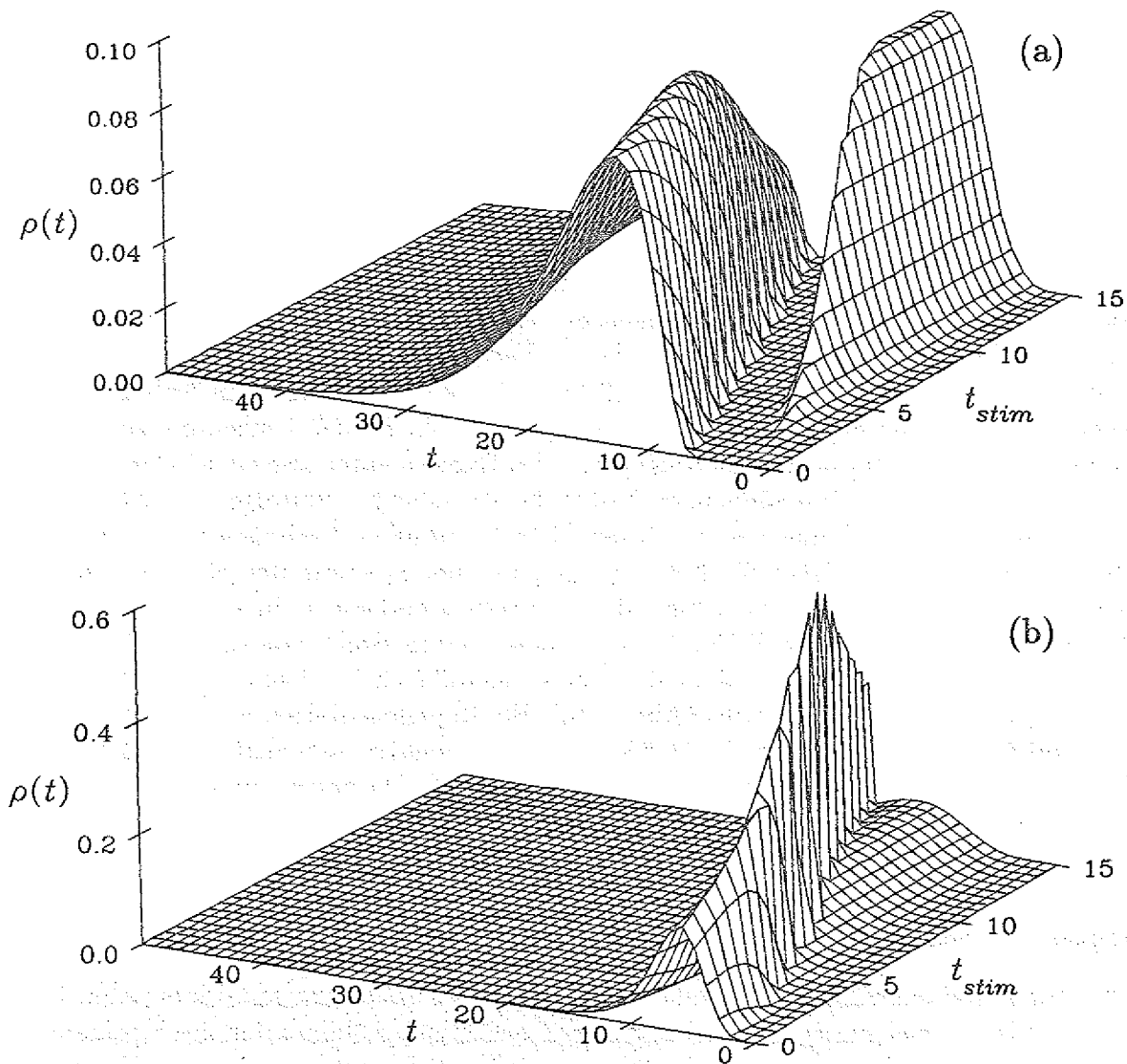


Abb. 2.5: Abhängigkeit der fpt-Verteilung $\rho(t)$ von t_{stim} . Gl. (2.8) wurde nach der Substitution von $w(t)$ durch $w_{stim}(t, t_{stim})$ unter Verwendung des Romberg-Verfahrens (siehe z.B. [56]) numerisch integriert. (a) Attractant-Reize mit $\mu = 2$, (b) Repellent-Reize mit $\mu = -20$. Die weiteren Parameter sind die Standardwerte und $\sigma_l = \sigma_r = 3$. Der gezackte Verlauf der Verteilung, insbesondere in (b), ist ein Artefakt der geringen Auflösung in t - und t_{stim} -Richtung. Es wurden 50×30 Werte berechnet.

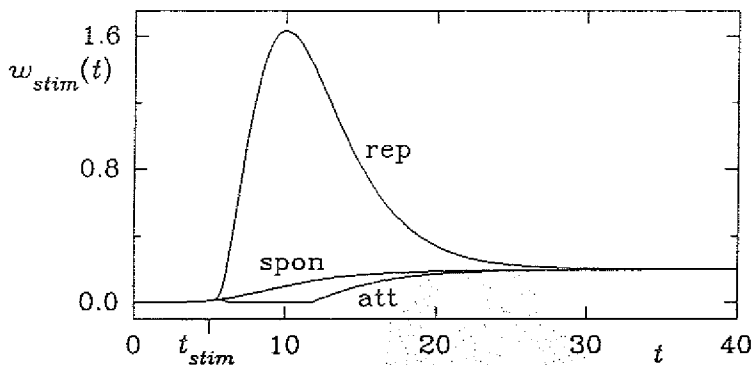


Abb. 2.4: $w_{stim}(t)$ für die Standardparameter mit $t_{stim} = 5$, $\sigma_l = \sigma_r = 3$ und $\mu = 0$ (spon), 2 (att), -20 (rep).

First-passage-time-Verteilungen

Zur Beschreibung der Phasenabhängigkeit der Antworten auf einzelne Lichtreize, wird zu vorgegebenen Reizzeitpunkten t_{stim} die fpt-Verteilung $\rho(t)$ durch numerische Integration von (2.8) unter Verwendung von (2.13–2.15) berechnet. Für die in Abb. 2.4 verwendeten Parameter erhält man die Verteilungen in Abb. 2.5. Da Umkehrereignisse zu Zeiten $t > 0$ betrachtet werden, in Analogie zu den Experimenten also auch Schwimmintervalle $\tau < t_{stim}$ auftreten können, enthalten die Verteilungen Beiträge von spontanen Ereignissen ($\tau \leq t_{stim}$) und von durch den Reiz beeinflussten Ereignissen ($\tau > t_{stim}$). Die Verteilungen sind daher für $0 \leq t \leq t_{stim}$ mit der Spontanintervallverteilung in Abb. 2.2a identisch. Für $t > t_{stim}$ führt die reduzierte Übergangswahrscheinlichkeit bei Attractant-Reizen zu einem Tal in der Verteilung, dessen Breite von t_{stim} unabhängig ist und durch den Abschnitt minimaler Übergangswahrscheinlichkeit (in diesem Beispiel $w_{stim}(t) = 0$) bestimmt wird (Abb. 2.5a). Bei Repellent-Reizen werden durch die stark erhöhte Übergangswahrscheinlichkeit Umkehrereignisse induziert, was ein scharfes Maximum in der Verteilung verursacht (Abb. 2.5b). Da angenommen wurde, daß die Übergangswahrscheinlichkeit $w(t) = kf(t)$ durch Lichtreize multiplikativ verändert wird, ist dieser Effekt für kleine t_{stim} kleiner als für große.

Phasen-Antwort-Plots

Für einen direkten Vergleich mit den experimentellen Phasen-Antwort-Plots (Abb. 1.4 und 1.5) ist die gleichartige Darstellung einer stochastischen Simulation des Übergangs von CW nach CCW geeigneter. Die Phasen-Antwort-Plots entsprechen einer Höhenliniendarstellung der fpt-Verteilungen. Eine hohe Punktdichte indiziert eine hohe Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Umkehrereignisses.

Das Vorgehen ist bei der Simulation dem experimentellen Vorgehen vollkommen analog (vgl. Abb. 1.3): zu vorgegebenem t_{stim} wird von $t = 0$ ausgehend der Zeitpunkt τ des nächsten Umkehrereignisses zufällig bestimmt und als Funktion von t_{stim} aufgetragen. Die Abb. 2.6 und 2.7 zeigen Ergebnisse solcher Simulationen für verschiedene Reizparameter.

Die Attractant-Antworten lassen sich über den ganzen Bereich sehr gut reproduzieren (Abb. 2.6). Wie bei den Experimenten kann man bei Ereignissen, für die $\tau > t_{stim}$ ist, die also nach dem Reiz auftreten (Punkte oberhalb der eingezeichneten Geraden),

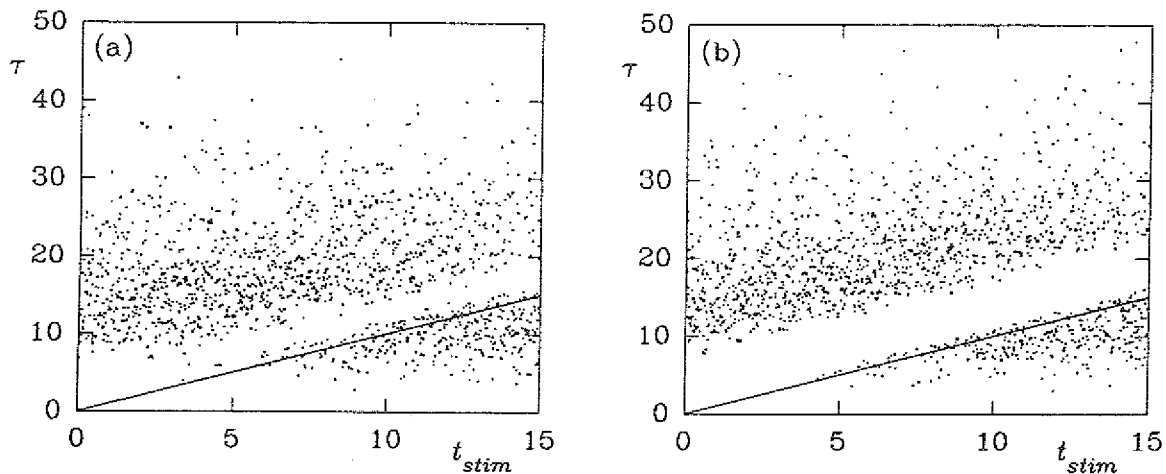


Abb. 2.6: Antworten auf Attractant-Reize: zu 500 Werten von t_{stim} wurden jeweils 3 Umkehrereignisse zufällig bestimmt (Simulation mit festem Zeitschritt $\Delta t = 0.1$). Für die eingezeichnete Gerade gilt $t = t_{stim}$. Parameter: $\mu = 1$ (a), $\mu = 2$ (b), $\sigma_l = \sigma_r = 3$ und Standardwerte.

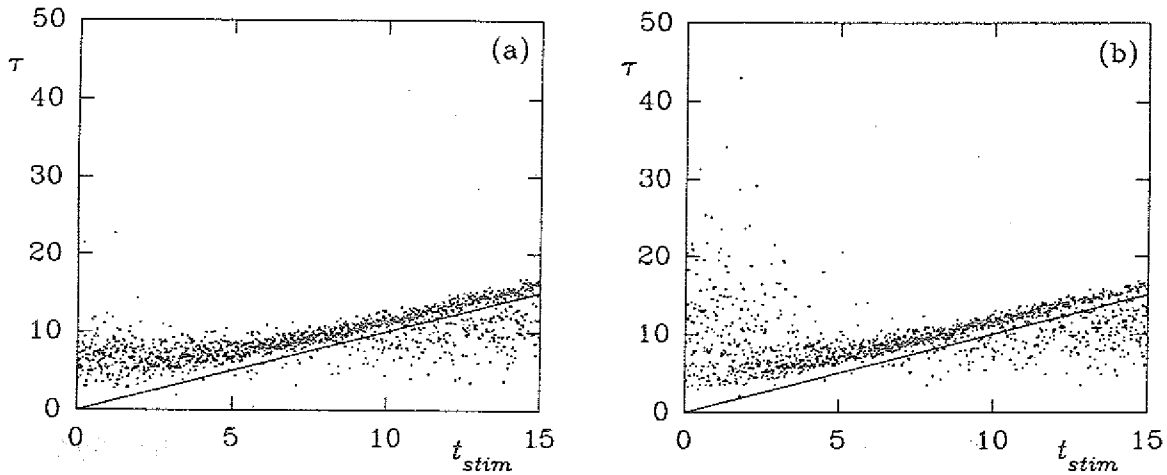


Abb. 2.7: Antworten auf Repellent-Reize: 500×3 Umkehrereignisse wurden zufällig bestimmt (Simulation mit festem Zeitschritt $\Delta t = 0.005$ (a), 0.01 (b)). Parameter: $\sigma_l = \sigma_r = 3$ (a), $\sigma_l = 6$, $\sigma_r = 1$ (b), $\mu = -20$ und Standardwerte. Für die Parameter in (b) nimmt das intrazelluläre Signal $s(t)$ etwa so schnell zu wie für die in (a), hat jedoch nur die halbe Lebensdauer.

zwei Arten von Antworten unterscheiden:

(i) Antworten, die von Spontanintervallen nicht wesentlich verschieden sind. Dies sind Punkte, die knapp oberhalb der Geraden $t = t_{stim}$ liegen. Ursache hierfür ist die kurze Zeitdifferenz zwischen Applikation des Reizes und einer wesentlichen Verminderung der Übergangswahrscheinlichkeit (Abb. 2.4 bzw. $s(t)$ in Abb. 2.3).

(ii) Fällt in diese kurze Verzögerungszeit kein Umkehrereignis, wird der Übergang von CW nach CCW transient unterdrückt, und man erhält Attractant-Antworten. In den Phasen-Antwort-Plots entsteht eine Lücke konstanter Breite, wie schon im Zusammenhang mit der fpt-Verteilung diskutiert. Ein Vergleich von Abb. 2.6a und 2.6b zeigt, daß zur Beschreibung von Attractant-Antworten bei hohen Reizlicht-Intensitäten (Abb. 1.4) $w_{stim}(t)$ über einen längeren Zeitraum sehr klein sein muß.

Die Repellent-Antworten lassen sich mit dem Zwei-Zustands-Modell nur für große t_{stim} befriedigend beschreiben (Abb. 2.7). In Übereinstimmung mit den Experimenten (Abb. 1.5) treten auch hier zwei Arten von Antworten auf, was dieselbe Ursache wie bei den Attractant-Antworten hat. Eine ausgeprägte Refraktärzeit für kleine t_{stim} tritt jedoch nicht auf. Zwar wird die Übereinstimmung mit den Experimenten besser, wenn man von einer kürzeren Signallebensdauer ausgeht (Abb. 2.7b) – das Signal paßt dann fast vollständig in den Bereich, in dem $f(t)$ und damit auch das Produkt $s(t - t_{stim})f(t)$ klein ist. Das Auftreten einer Lücke in den Phasen-Antwort-Plots (vgl. Abb. 1.5b) läßt sich jedoch auch dann nicht simulieren.

2.2.3 Antwort auf periodische Lichtreize

Periodische Lichtreize entsprechen in diesem Modell einem periodischen $k_{stim}(t)$, d.h.

$$k_{stim}(t) = k_{stim}(t + T) \quad \text{für alle } t, \quad (2.16)$$

mit der Periode T der Stimulierung. Interessant sind in diesem Zusammenhang die Verteilung und Korrelationen zwischen *aufeinanderfolgenden* Schwimmintervallen. Dabei ändert sich $k_{stim}(t)$ unabhängig davon, zu welchen Zeitpunkten Übergänge zwischen CW und CCW erfolgen. In der Übergangswahrscheinlichkeit w_{stim} muß daher wieder das Alter a des jeweils besetzten Zustands eingeführt werden. Gleichung (2.13) ist durch

$$w_{stim}(t, a) = k_{stim}(t)f(a) \quad (2.17)$$

zu ersetzen, wobei a immer dann auf null gesetzt wird, wenn ein Umkehrereignis aufgetreten ist. Dies heißt außerdem, daß Gleichung (2.8) für die fpt-Verteilung nicht mehr korrekt ist. Diese Diskussion soll jedoch bis Kap. 4.2 zurückgestellt werden. In diesem Abschnitt werden nur auf Simulationen betrachtet.

Periodische Lichtreize bedeuten bei Halobakterien eine alternierende Applikation von Repellent- und Attractant-Reizen (vgl. Kap. 1.1.1). In Analogie zu den Experimenten wird bei den Simulationen die Zeitdifferenz zwischen einem Repellent- und dem nachfolgenden Attractant-Reiz, t_{rep} , konstant gehalten³. Die Periode der Stimulierung wird über die Differenz zwischen einem Attractant- und dem nachfolgenden

³Für die Experimente in Abb. 1.6 ist $t_{rep} = 1.5s$.

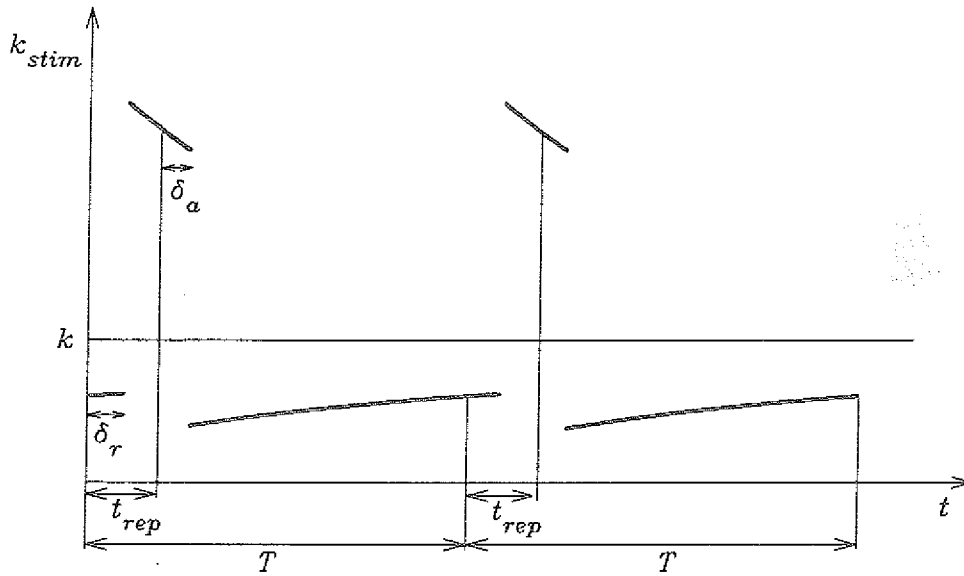


Abb. 2.8: Qualitativer Verlauf von $k_{stim}(t)$ für periodische Lichtreize. Die Bedeutung der Parameter ist im Text erklärt.

Repellent-Reiz variiert. Als Ansatz für k_{stim} wählen wir

$$k_{stim}(t) = \begin{cases} k(1 - \mu_r \exp(-k_r t)) & \text{für } nT + \delta_r \leq t < nT + t_{rep} + \delta_a \\ k(1 - \mu_a \exp(-k_a t)) & \text{für } nT + t_{rep} + \delta_a \leq t < (n+1)T + \delta_r, \end{cases} \quad (2.18)$$

$n = 0, 1, 2, \dots$, wobei sich die Indizes a und r auf „attractant“ bzw. „repellent“ beziehen. In diesem Ansatz wurde der Stimulus $s(t)$ Gl. (2.14) durch explizite Einführung einer Verzögerung δ zwischen Applikation und Beginn der Wirkung des Reizes zu

$$s(t) = \begin{cases} 0 & \text{für } t \leq \delta_i \\ \exp(-k_i(t - \delta_i)) & \text{für } t > \delta_i \end{cases}, \quad (2.19)$$

$i = a, r$, vereinfacht und der Zeitnullpunkt so gewählt, daß die Repellent-Reize zu den Zeitpunkten $t = nT$ erfolgen. Der Effekt von δ_a und δ_r kann ebensogut durch eine Verschiebung des Zeitnullpunktes, $t' = t - \delta_r$, und eine Veränderung von t_{rep} , $t'_{rep} = t_{rep} + \delta_a - \delta_r$, erreicht werden. Abb. 2.8 zeigt qualitativ den Verlauf von k_{stim} über zwei Perioden.

Halobakterien verrechnen kurz aufeinanderfolgende Reize miteinander [21]. Dies äußert sich z.B. darin, daß bei zwei Reizen unterschiedlichen Vorzeichens, in Abhängigkeit von der Zeitdifferenz zwischen den Reizen, die Wirkung des zweiten Reizes durch den vorhergehenden abgeschwächt wird. In den nachfolgenden Simulationen wird dieser Effekt dadurch berücksichtigt, daß die Amplitude μ_r des Repellent-Signals mit zunehmender Stimulierungsfrequenz abnimmt (die Zeitdifferenz zwischen Attractant- und Repellent-Reiz nimmt ab, die zwischen Repellent- und Attractant-Reiz bleibt hingegen konstant gleich t_{rep}). Die unterschiedlich starke Wirkung der Reize ist jedoch für das

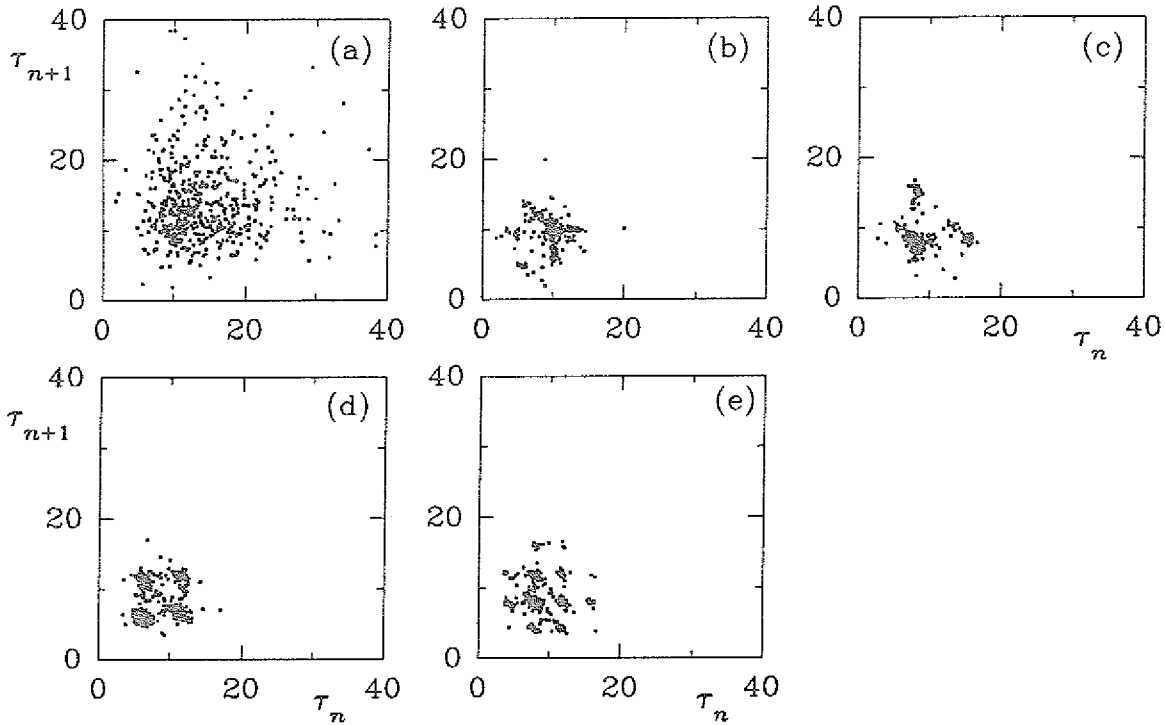


Abb. 2.9: Antworten auf periodische Reize: Simulationen von Next-period-Plots für Spontanintervalle (a), $T = 10$ (b), 8 (c), 6 (d), 4 (e) mit jeweils 500 Schwimmintervallen. Parameter: $t_{rep} = 1.5$, $\delta_a = \delta_r = 3$, $k_a = k_r = 0.2$, $\mu_a = 1$, $\mu_r = -35$ (b), -30 (c), -25 (d), -20 (e) und Standardwerte. Der Prozeß wurde mit festem Zeitschritt $\Delta t = 0.01$ simuliert.

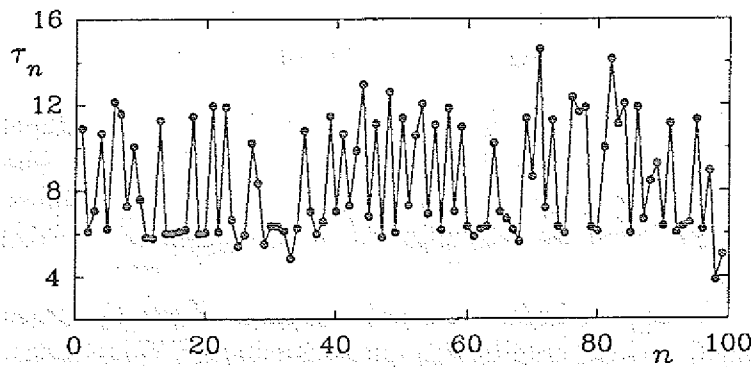


Abb. 2.10: Sequenz aufeinanderfolgender Schwimmintervalle: Aufgetragen sind 100 Intervalle aus der Simulation in Abb. 2.9d.

folgende nicht wesentlich. Sie führt zu einer anwachsenden Streuung der Schwimmintervalle.

Ausgehend von der Spontanintervallverteilung in Abb. 2.2a ergeben Simulationen des Prozesses die Folge von Next-period-Plots in Abb. 2.9. Wie bei den Experimenten in Abb. 1.6 bewirken periodische Reize ein Entrainment zwischen Reiz- und Schwimmintervallen. Reize mit einer Periodenlänge T , die etwa gleich der häufigsten Länge eines Spontanintervalls ist, führen zu einer deutlichen Reduktion der Streuung der Schwimmintervalle, wobei das Maximum der Verteilung bei T liegt. Mit zunehmender Reizfrequenz erscheint in den Next-period-Plots eine zunehmende Anzahl äquidistanter Flecken mit Schwerpunkten bei ganzzahligen Vielfachen der Reizperiode, die im folgenden durch $(\tau_n, \tau_{n+1}) = (uT, vT)$, $u, v = 1, 2, \dots$ gekennzeichnet seien. Beträgt T etwas weniger als die Hälfte des häufigsten Spontanintervalls, ist $(2T, 2T)$ der am stärksten besetzte Fleck (Abb. 2.9e). Es folgen nur noch sehr selten zwei kurze Schwimmintervalle aufeinander. Dieser Effekt tritt in demselben Frequenzbereich auch experimentell auf (Abb. 1.6f). Für noch höhere Reizfrequenzen verschiebt sich das Muster (uT, vT) zu größeren Werten von u und v (nicht gezeigt).

Diese Ergebnisse lassen sich mit Hilfe der Phasen-Antwort-Plots für einzelne Lichtreize leicht verstehen. Die Reduktion der Streuung und das Entrainment ergeben sich aus dem Zusammenspiel aufeinanderfolgender Repellent- und Attractant-Reize:

- Erfolgt ein Umkehrereignis kurz nach einem Repellent-Reiz, ist unmittelbar danach die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines weiteren Ereignisses sehr klein, da dann $f(a)$ klein ist (Abb. 2.7).
- Der nachfolgende Attractant-Reiz unterdrückt das Umkehrereignis noch länger (Abb. 2.6), so daß es mit großer Wahrscheinlichkeit erst durch den nächsten Repellent-Reiz induziert wird.

Für höhere Reizfrequenzen wird dabei die Abhängigkeit der Übergangswahrscheinlichkeit vom Alter des besetzten Zustands bedeutsam. Sie führt dazu, daß durch einen Repellent-Reiz immer häufiger kein Übergang induziert wird, da die Reize zu kurz aufeinander folgen (Ereignisse im vorderen Teil des Phasen-Antwort-Plots Abb. 2.7). Als Konsequenz treten in der Schwimmintervallverteilung mehrere äquidistante Maxima auf.

Das Zwei-Zustands-Modell beschreibt also recht gut die Veränderung der Schwimmintervallverteilungen bei periodischen Reizen: Reduktion der Streuung und Entrainment; Entstehung weiterer Maxima in der Verteilung; Verschiebung des absoluten Maximums von $\tau_{max} \approx T$ zu $\tau_{max} \approx 2T$. Nicht reproduziert werden kann die in einigen Experimenten beobachtete *Korrelation* zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen, siehe zum Beispiel Abb. 1.6d,g. Bei den Simulationen folgen die Schwimmintervalle eher regellos aufeinander (Abb. 2.10). Dieser Punkt kann in dieser Arbeit auch nicht geklärt werden.

2.3 Diskussion

Das Zwei-Zustands-Modell ist ein phänomenologisches Modell für das Schwimmverhalten von Halobakterien, das eine Untersuchung der Frage erlaubt, auf welche Weise Lichtreize auf das System wirken. Mit der Annahme, daß Lichtreize die Übergangswahrscheinlichkeit zwischen CW und CCW transient verändern, ergeben sich als wesentliche Ergebnisse die folgenden Punkte:

- In Übereinstimmung mit den Experimenten ist die Größe von Attractant-Antworten unabhängig vom Zeitpunkt des Reizes bezogen auf das letzte Umkehrereignis. Attractant-Antworten zeigen also keine Phasenabhängigkeit. Dasselbe gilt für Repellent-Antworten auf Reize, die genügend lange nach dem letzten Umkehrereignis gegeben wurden.
- Nimmt man an, daß die Art und Weise, in der Lichtreize auf das System wirken, unabhängig vom Reizzeitpunkt ist, ist die Refraktärzeit für Repellent-Reize nicht erklärbar. In diesem Punkt wären zusätzliche Annahmen erforderlich, wie z.B. die Annahme einer wesentlich kürzeren Lebensdauer des Reizes zu Beginn eines Schwimmintervalls oder eine grundsätzliche Erweiterung des Modells (siehe unten).
- Die Beobachtung, daß auch *nach* einem Reiz noch Schwimmintervalle auftreten, die von Spontanintervallen nicht signifikant verschieden sind, erfordert die Annahme einer Verzögerung zwischen der Applikation des Reizes und der Entstehung eines den Geißelmotor beeinflussenden, intrazellulären Signals.
- Die alternierende Applikation von Repellent- und Attractant-Reizen ist ausreichend zur Erklärung der experimentellen Beobachtungen bei periodischen Reizen, mit der Ausnahme, daß Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen nicht reproduziert werden können.

Bisher vollkommen außer acht gelassen wurde die Frage, wie die Experimente mit IBMX zu verstehen sind (Abb. 1.8). Geht man davon aus, daß die Zugabe von IBMX in festen Konzentrationen zu einer *permanenten* Änderung von Parametern führt (die Wirkung von IBMX hält im Gegensatz zu der stufenförmiger Lichtreize über viele Schwimmintervalle an), kann das Zwei-Zustands-Modell keine Erklärung für das Auftreten multimodaler Schwimmintervallverteilungen liefern. Ein Ansatz zum Verständnis ist die Erweiterung des Modells auf vier Zustände. Führt man in Anlehnung an McCain et al. [19] zusätzlich einen Schalter für den Geißelmotor ein, der die Zustände R („reversing state“, Umschalten der Geißeldrehrichtung möglich) und N („non-reversing state“, Umschalten der Geißeldrehrichtung nicht möglich) einnehmen kann, ergibt sich das Schema in Abb. 2.11. Unmittelbar nach einem Umkehrereignis soll sich der Schalter im Zustand N befinden, d.h. es liegt der Zustand N/CW oder N/CCW vor. Der nachfolgende Übergang in R/CW bzw. R/CCW ist, wie beim Zwei-Zustands-Modell, abhängig vom Alter a des besetzten Zustands und deshalb verantwortlich für die charakteristische Form der Spontanintervallverteilung. Danach erfolgt mit der Wahrscheinlichkeit $k_2/(k_1 + k_2)$ die Änderung der Geißeldrehrichtung, oder das System springt mit der Wahrscheinlichkeit

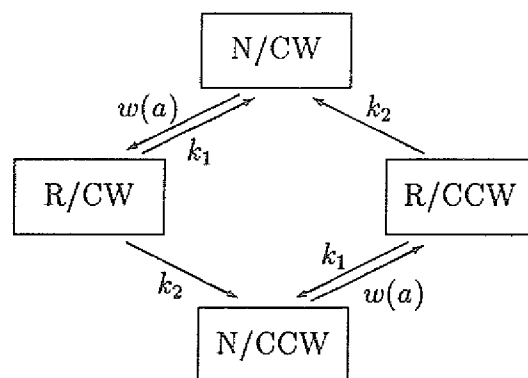


Abb. 2.11: Das Vier-Zustands-Modell (vgl. Text).

$k_1/(k_1 + k_2)$ zurück in den vorherigen Zustand. Im Grenzfall $k_2 \gg f(a)$, k_1 ergibt sich aus diesem Ansatz das Zwei-Zustands-Modell.

Nimmt man nun an, daß IBMX das Verhältnis k_1/k_2 vergrößert, treten mit zunehmender IBMX-Konzentration immer mehr Rücksprünge von R/... nach N/... auf, was zu „Aussetzern“ und damit zur Entstehung äquidistanter Maxima in der Schwimmintervallverteilung führt. Die weitergehende Annahme, daß k_1 , abhängig vom Alter a des Zustands N/..., umso größer ist, je kleiner a ist, begünstigt Rücksprünge bei potentiell kurzen Schwimmintervallen und könnte so die Refraktärzeit für Repellent-Reize und die in den Phasen-Antwort-Plots auftretende Lücke erklären (vgl. Abb. 1.5b). Die Zurückführung dieses Effekts auf Aussetzter wäre in Übereinstimmung mit den experimentellen Daten (vgl. Kap. 1.1.1). Dieser Ansatz soll jedoch nicht weiter verfolgt werden. Stattdessen wird im nächsten Kapitel ein Modell ausführlich diskutiert, das eine mikroskopische Erklärung für die hier phänomenologisch eingeführte Übergangswahrscheinlichkeit $w(a)$ liefert und gleichzeitig Antworten auf solche Fragen gibt, die im Rahmen des Zwei-Zustands-Modells offen geblieben sind.

Kapitel 3

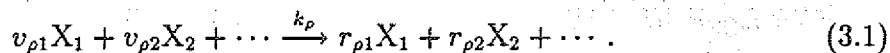
Das Oszillatormodell

Das Oszillatormodell basiert auf der Hypothese von Schimz und Hildebrand, daß die Wechsel in der Drehrichtung der Bakteriengeißeln durch einen intrazellulären, biochemischen Oszillator gesteuert werden ([6], siehe Kap. 1.1.2). Um zu testen, inwieweit dieser Ansatz geeignet ist, das Schwimmverhalten von Halobakterien zu verstehen, sollen die Antworten eines einfachen Reaktionssystems auf verschiedene Reize untersucht werden.

3.1 Allgemeines Konzept

3.1.1 Grundlegende Annahmen

Wir betrachten ein Schema von chemischen Reaktionen $\rho = 1, 2, \dots$, die durch die Reaktanden $X_1, X_2, \dots$, Ratenkonstanten k_ρ und stöchiometrische Koeffizienten $v_{\rho j}, r_{\rho j}$ definiert sind



Offene Systeme, in denen die Konzentration eines oder mehrerer X_j festgehalten wird, sollen hierin eingeschlossen sein, und es gilt $v_{\rho j} = 0$ und/oder $r_{\rho j} = 0$, falls X_j an der Reaktion ρ unbeteiligt ist oder nur auf einer Seite vorkommt.

Die grundlegenden Annahmen des Oszillatormodells lassen sich dann folgendermaßen formulieren:

1. Im Laufe der Zeit sollen die Konzentrationen der X_j in (3.1) nicht gegen stationäre Werte gehen, sondern *oszillatorisches Verhalten*¹ zeigen. Eines der X_j wirkt dabei als „Schaltsubstanz“ Y , die ein Umkehrereignis auslöst, sobald ihre Konzentration y eine *feste* Schwelle y_s erreicht. Das nächste Umkehrereignis kann erst dann ausgelöst werden, wenn y zwischenzeitlich eine zweite, feste Schwelle $y_m < y_s$ unterschritten hat.
2. Das Umschalten der Geißeldrehrichtung erfolgt *instantan*.

¹Unter „Oszillation“ wird im folgenden immer die zeitliche Oszillation von Teilchenkonzentrationen verstanden.

3. Einzelne Lichtreize bewirken eine *transiente* Änderung einer oder mehrerer Ratenkonstanten k_p .
4. Die Behandlung mit IBMX führt zu einer *permanenten* Änderung einer oder mehrerer Ratenkonstanten k_p .

Punkt 1 ist die Kernthese des Oszillatormodells: Es gibt ein vom Zustand des Geißelmotors unabhängiges Subsystem in der Zelle, dessen Zustand sich periodisch ändert, und das als „Zeitgeber“ für das Umschalten der Geißeldrehrichtung fungiert. Die Annahme einer festen Schaltschwelle ist dabei der zunächst einfachste Ansatz für eine Kopplung zwischen Oszillator und Geißelmotor. Ein realistischerer Ansatz wäre zu sagen, die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Schaltereignisses ist eine Funktion der Konzentration der Schaltschubstanz. Dieser Punkt wird in Kap. 3.6 kurz diskutiert werden. Die Einführung der unteren Schwelle y_m erzwingt, daß Umkehrereignisse nur nach einer „vollständigen“ Oszillation auftreten können, und entspricht so der Vorstellung eines Zeitgebers für das Umschalten der Geißeldrehrichtung. Der eigentliche Grund für die Einführung von y_m ist jedoch ein technischer: es wird verhindert, daß unablässig Umkehrereignisse ausgelöst werden, wenn y die Schaltschwelle überschritten hat (siehe auch in diesem Zusammenhang Kap. 3.6).

Bei Punkt 2 wird angenommen, daß die Reaktionen, die angestoßen werden, wenn y die Schwelle y_s erreicht, und die zu einem Umkehrereignis führen, auf einer sehr viel schnelleren Zeitskala als die Oszillation ablaufen, so daß der Schaltzeitpunkt praktisch mit dem Zeitpunkt, zu dem die Schwelle überschritten wird, identifiziert werden kann.

Die Punkte 3 und 4 sind Konsequenzen experimenteller Beobachtungen. Die Bakterien adaptieren an veränderte Lichtverhältnisse, so daß am Oszillator nur ein transientes Signal ankommt, falls man annimmt, daß die Adaptation bei früheren Schritten in der Signalkette passiert. Die Wirkung von IBMX hält dagegen über einen langen Zeitraum an (siehe Kap. 1.1.1).

Der Übergang zwischen den Zuständen CW und CCW (bzw. umgekehrt) läßt sich somit, Punkt 1 und 2 zusammengefaßt, als ein zweistufiger Vorgang ansehen:

$$\boxed{M_1/CW} \longrightarrow \boxed{M_2/CW} \longrightarrow \boxed{M_1/CCW}. \quad (3.2)$$

M_1 und M_2 beziehen sich dabei auf den Zustand des Oszillators. Unmittelbar nach einem Umkehrereignis befindet sich der Oszillator im Zustand M_1 . Sobald $y(t) < y_m$ ist, erfolgt der Übergang nach M_2 , ohne daß sich die Drehrichtung der Geißeln ändert. Eine Änderung der Drehrichtung ist danach mit dem Übergang in M_1 verknüpft, sobald $y(t) > y_s$ ist. Schwimmintervallverteilungen entsprechen also im Oszillatormodell der Verteilung der Summe zweier First-passage-Zeiten: der Zeit für den Übergang $M_1/CW \rightarrow M_2/CW$ plus der Zeit für den Übergang $M_2/CW \rightarrow M_1/CCW$.

3.1.2 Dynamik – deterministischer Ansatz

Obwohl die zeitliche Entwicklung des Reaktionssystems (3.1) als stochastischer Prozeß betrachtet werden soll, ist der makroskopische, deterministische Grenzfall hilfreich bei der Interpretation der Ergebnisse. Sind an den Reaktionen m Reaktanden beteiligt, ist

auf dieser Ebene der Zustands- oder Phasenraum des Systems der $\mathbb{R}^m$, d.h. der Zustand des Systems wird durch ein m -Tupel $(x_1, \dots, x_m) \in \mathbb{R}^m$ reeller Zahlen charakterisiert, wobei x_j die Konzentration von X_j ist. Die Beschreibung der Dynamik erfolgt durch Ratengleichungen für die Konzentrationen x_j :

$$\dot{x}_j = \sum_{\rho} (r_{\rho j} - v_{\rho j}) f_{\rho}(x_1, \dots, x_m, k_1, k_2, \dots). \quad (3.3)$$

Die Reaktionsrate f_{ρ} ist die Anzahl von Reaktionen ρ pro Zeit- und Volumeneinheit, wobei sich die Anzahl von Teilchen X_j jeweils um $r_{\rho j} - v_{\rho j}$ ändert. Ein üblicher Ansatz für die f_{ρ} ist der van't Hoffsche Ansatz ([37], Kap. VII)

$$f_{\rho} = k_{\rho} \prod_{i=1}^m x_i^{v_{\rho i}}. \quad (3.4)$$

Für geeignet gewählte Parameter k_{ρ} soll (3.3) stabile periodische Lösungen $x_j(t) = x_j(t+T)$ besitzen. Im Phasenraum laufen diese Lösungen auf einer geschlossenen Trajektorie, einem „Grenzzyklus“. Wegen der Eindeutigkeit der Lösungen von Differentialgleichungen muß daher aus topologischen Gründen $m \geq 2$ sein. Außerdem müssen die Reaktionsraten *nichtlineare* Terme enthalten, da in linearen Systemen nur strukturell instabile, harmonische Oszillationen auftreten können. Für das Reaktionssystem heißt das, daß Reaktionen höherer als erster Ordnung auftreten müssen.

3.1.3 Dynamik – stochastischer Ansatz

Auf mesoskopischer Ebene läßt sich die zeitliche Entwicklung von (3.1) als Markoffscher stochastischer Prozeß auffassen und mit Hilfe einer Master-Gleichung beschreiben ([37], Kap. VII). Im Gegensatz zum deterministischen Fall betrachtet man hier einen diskreten Phasenraum. Ein Zustand wird durch ein m -Tupel $(n_1, \dots, n_m) \in \mathbb{N}_0^m$ natürlicher Zahlen charakterisiert, wobei n_j gleich der Anzahl von Teilchen der Sorte X_j ist. Die Master-Gleichung ist dann eine Gleichung für die Zeitabhängigkeit der Wahrscheinlichkeit $P(n_1, \dots, n_m, t)$, daß das System zum Zeitpunkt t im Zustand $(n_1, \dots, n_m)$ ist, falls es zum Zeitpunkt $t = 0$ mit Sicherheit im Zustand $(n_1^0, \dots, n_m^0)$ war.

Zustandsänderungen entsprechen in diesem Bild Sprüngen zwischen Gitterplätzen eines m -dimensionalen Gitters und nicht einer kontinuierlichen Kurve im $\mathbb{R}^m$. Welche Gitterplätze durch Sprünge miteinander verknüpft werden können, wird durch die Reaktionen (3.1) festgelegt. Ist beispielsweise in der Reaktion 1 nur für $j = 1$ v_{1j} ungleich r_{1j} , dann springt das System vom Gitterplatz $(n_1, n_2, \dots, n_m)$ auf den Gitterplatz $(n_1 + r_{11} - v_{11}, n_2, \dots, n_m)$, falls die Reaktion 1 stattfindet. Allgemein gilt für die Reaktion ρ in vektorieller Schreibweise

$$n \rightarrow n' = n + r_{\rho} - v_{\rho}. \quad (3.5)$$

Zur Beschreibung von Zustandsänderungen wird jedem möglichen Sprung bzw. jeder möglichen Reaktion eine *Übergangswahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit* $W(n'|n)$ zugeordnet², so daß $W(n'|n)\Delta t$ die Wahrscheinlichkeit dafür ist, daß innerhalb des

²Als Schreibweise wird üblicherweise benutzt: $W(\text{Endzustand}|\text{Ausgangszustand})$.

nächsten, infinitesimalen Zeitintervalls Δt ein Übergang von n nach n' erfolgt. Die Master-Gleichung bilanziert dann die Übergänge in n hinein und aus n heraus:

$$\begin{aligned}\dot{P}(n, t) &= \sum_{n'} \left\{ \underbrace{W(n|n')P(n', t)}_{\text{Übergänge in } n \text{ hinein}} - \underbrace{W(n'|n)P(n, t)}_{\text{Übergänge aus } n \text{ heraus}} \right\} \\ &= \sum_{\rho} \left\{ W(n|n - r_{\rho} + v_{\rho})P(n - r_{\rho} + v_{\rho}, t) - W(n + r_{\rho} - v_{\rho}|n)P(n, t) \right\}\end{aligned}\quad (3.6)$$

mit der Anfangsbedingung

$$P(n, 0) = \delta_{nn_0} = \delta_{n_1 n_1^0} \delta_{n_2 n_2^0} \cdots \delta_{n_m n_m^0}. \quad (3.7)$$

In Analogie zum deterministischen Fall kann für die Übergangswahrscheinlichkeiten $W(n'|n)$ der van't Hoffsche Ansatz gemacht werden, allerdings mit einer statistischen Korrektur, die bei kleinen Teilchenzahlen wichtig ist ([37], Kap. VII, siehe auch [74]). Dazu sind in (3.4) die Faktoren

$$x^{v_{\rho j}} = \left(\frac{n_j}{V}\right)^{v_{\rho j}} \quad (3.8)$$

zu ersetzen durch

$$\frac{1}{V^{v_{\rho j}}} \binom{n_j}{v_{\rho j}} = \frac{1}{V^{v_{\rho j}}} \frac{n_j(n_j - 1)(n_j - 2) \cdots (n_j - v_{\rho j} + 1)}{(v_{\rho j})!}, \quad (3.9)$$

wobei V das Systemvolumen ist. $\binom{n_j}{v_{\rho j}}$ ist die Anzahl möglicher Kombinationen für einen Stoß von $v_{\rho j}$ Teilchen der Sorte X_j , wenn n_j Teilchen im Volumen vorhanden sind. Außerdem muß berücksichtigt werden, daß die Übergangswahrscheinlichkeiten $W(n'|n)$ extensive Größen sind, da die Wahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit, daß irgendwo in V die Reaktion ρ stattfindet, bei festgehaltenen Konzentrationen proportional zu V ist. Mit der Definition

$$((n))^v = n(n - 1)(n - 2) \cdots (n - v + 1) = \frac{n!}{(n - v)!} \quad (3.10)$$

sind dann die Übergangswahrscheinlichkeiten

$$W(n + r_{\rho} - v_{\rho}|n) = V k_{\rho} \prod_{i=1}^m \frac{((n_i))^{v_{\rho i}}}{V^{v_{\rho i}}}. \quad (3.11)$$

Die Faktoren $1/(v_{\rho j})!$ sind hierbei in die Ratenkoeffizienten k_{ρ} hineindefiniert worden. Abgesehen vom Faktor V geht (3.11) für große Teilchenzahlen in (3.4) über.

3.2 Das Reaktionssystem

Zur Frage, unter welchen Bedingungen biochemische Reaktionssysteme zeitliche Oszillationen zeigen können, gibt es viele Arbeiten. Dabei können bezüglich der Art und

Weise, auf die eine Kette enzymatischer Reaktionen durch ihre Metaboliten reguliert wird, zwei Ansätze unterschieden werden. Der eine geht davon aus, daß ein Metabolit ein in der Kette vorhergehendes Enzym hemmt („Endprodukthemmung“). Dieser Fall wurde von Walter systematisch untersucht [44, 45] und von Rapp und Berridge als Mechanismus für Oszillationen in Calcium-cAMP-Systemen vorgeschlagen [46]. Der andere Ansatz geht von einer Endproduktaktivierung aus und wurde z.B. von Sel'kov zur Erklärung von Glykolyse-Oszillationen in Hefe verwendet [47]. Wegen des autokatalytischen Charakters kann dieser Mechanismus zu scharfen, relaxationsartigen Oszillationen führen, wohingegen bei einer Endprodukthemmung eher sinusförmige Oszillationen auftreten.

Zur Formulierung der Oszillatorhypothese bei Halobakterien werden wir ein Reaktionsschema mit einem autokatalytischen Schritt verwenden. Dies läßt sich *a priori* nicht begründen, sondern wird erst im nachhinein durch die Ergebnisse gerechtfertigt. Das System soll außerdem möglichst einfach sein, was die Anzahl der Variablen und die Reaktionsraten bzw. Übergangswahrscheinlichkeiten angeht. Insbesondere sollen Sättigungseffekte, die bei enzymatischen Reaktionen deswegen auftreten, weil die Reaktionsgeschwindigkeit als Funktion der Substratkonzentration durch die (feste) Enzymkonzentration begrenzt ist (siehe z.B. [48]), nicht berücksichtigt werden. Dies bedeutet allerdings keine große Einschränkung, wenn man davon ausgeht, daß für eine effektive Regulation von Vorgängen in der Zelle die Enzymkonzentrationen in einem Bereich liegen sollten, in dem die Reaktionsraten empfindlich von den Substratkonzentrationen abhängen. Wir werden daher als Modellsystem ein Zwei-Variablen-System wählen (vgl. Kap. 3.1.2) und für Reaktionsraten den van't Hoffschen Ansatz (3.4) bzw. (3.11) verwenden. Tyson und Light [49] sowie Schnakenberg [50] haben gezeigt, daß in diesem Fall die Beteiligung einer tri- oder höher-molekularen autokatalytischen Reaktion Voraussetzung für das Auftreten von Grenzzyklen ist³. Solche Reaktionen sind eher unrealistisch und kommen in der Natur selten vor. Es gibt jedoch die Möglichkeit, *effektiv trimolekulare* Reaktionen durch eine Kette bimolekularer Reaktionen zu realisieren (Anhang A). Als konkretes Reaktionssystem wählen wir die folgenden fünf Reaktionen:



X und Y sind dabei Substanzen variabler Konzentration. Das System ist offen für

³Genauer gesagt untersuchen die Autoren, unter welchen Bedingungen ein *eindeutiger* Fixpunkt instabil werden kann. Dies impliziert in einem Zwei-Variablen-System die Existenz eines stabilen Grenzzyklus, falls das System keine divergierenden Lösungen besitzt.

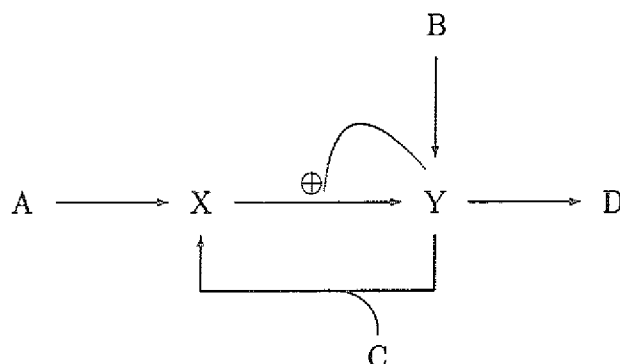


Abb. 3.1: Das Reaktionsschema: $\oplus$ deutet die autokatalytische Reaktion von X nach Y an.

Materieflüsse aus bzw. in Reservoirs A, B, C und D und enthält als nichtlinearen, autokatalytischen Schritt die Reaktion $X + 2Y \rightarrow 3Y$. Da Grenzzyklen Strukturen sind, die weit weg vom thermodynamischen Gleichgewicht entstehen (siehe z.B. [51]), wurde außerdem angenommen, daß alle Reaktionen praktisch nur in einer Richtung ablaufen.

Zur Veranschaulichung seiner Struktur wird das System am besten schematisch dargestellt (Abb. 3.1). Global gesehen findet ein Stofftransport von A, B und C nach D statt. Der für die Dynamik wichtige Zwischenschritt ist dabei die autokatalytische Umwandlung von X in Y. Durch die Einführung der Rücktransformation von Y in X enthält dieses Schema als Grenzfälle Oszillatoren, die schon in anderem Zusammenhang verwendet worden sind:

- Für $k_a = 0$ ist das System identisch mit dem „Brusselator“, einem der Prototypen für chemische Oszillatoren [52, 53].
- Für $k_b = k_2 = 0$ entspricht das System Sel'kovs Modell für Glykolyseoszillationen, wobei X mit ATP, einem der Substrate der Phosphofructokinase, und Y mit ADP, einem der Produkte, identifiziert werden kann [47].
- Macht man für die Reaktionen (3.12-c) und (3.12-d) allgemeinere Ansätze der Form



wobei f und g monoton wachsende Funktionen der Konzentration von X und Y sind, läßt sich für $k_a = 0$ das Reaktionsschema auch auf das Modell für Calcium-Oszillationen von Goldbeter et al. abbilden [54]. X entspricht hierbei der Ca^{2+} -Konzentration in einem intrazellulären Calciumspeicher und Y der Konzentration an freiem Ca^{2+} . Die Reaktion (3.13) beschreibt die Ca^{2+} -abhängige Freisetzung von Ca^{2+} aus dem Calciumspeicher („ Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release“), Reaktion (3.14) den Rücktransport von Ca^{2+} in den Speicher, Reaktion (3.12-a) eine von

äußeren Reizen abhängige Ca^{2+} -Freisetzung aus einem IP_3 -abhängigen Speicher und Reaktion (3.12-e) die Freisetzung von Ca^{2+} in den extrazellulären Raum. Für die Raten $f(x, y)$ und $g(y)$ machen Goldbeter et al. Ansätze unter Verwendung von Funktionen der Form $H(x) = V_{\max} x^n / (K^n + x^n)$.

3.3 Die Ratengleichungen

Als erstes soll das makroskopische Verhalten des Reaktionssystems (3.12) untersucht werden. Unter Verwendung des Ansatzes (3.4) für die Reaktionsraten erhält man als Ratengleichungen für die Konzentrationen von X und Y

$$\dot{x} = J_a - k_1 xy^2 + k_c y \quad (3.15-a)$$

$$\dot{y} = J_b + k_1 xy^2 - k_c y - k_3 y. \quad (3.15-b)$$

Die konstanten Flüsse $J_a = k_a a > 0$ und $J_b = k_b b > 0$ sowie $k_c = k_2 c > 0$ beschreiben dabei die Kopplung an die Reservoirs A, B und C.

Für die weitere Diskussion ist es zweckmäßig, durch geeignete Einheiten die Zahl der freien Parameter zu reduzieren. Wählt man als Zeiteinheit s und Volumeneinheit v

$$s = k_3^{-1} \quad \text{und} \quad v = \sqrt{\frac{k_1}{k_3}}, \quad (3.16)$$

gehen die Ratengleichungen (3.15) in

$$\frac{d\bar{x}}{d\bar{t}} = \bar{a} - \bar{x}\bar{y}^2 + \bar{c}\bar{y} \quad (3.17-a)$$

$$\frac{d\bar{y}}{d\bar{t}} = \bar{b} + \bar{x}\bar{y}^2 - (\bar{c} + 1)\bar{y} \quad (3.17-b)$$

über, mit $\bar{t} = s^{-1}t$, $\bar{x} = vx$, $\bar{y} = vy$, $\bar{a} = svJ_a$, $\bar{b} = svJ_b$ und $\bar{c} = sk_c$. $\bar{a}$, $\bar{b}$ und $\bar{c}$ sind definitionsgemäß nicht-negative Parameter.

Die Querstriche werden im folgenden wieder weggelassen, da nur noch die so normierten Größen benutzt werden.

3.3.1 Stationärer Zustand und lineare Stabilitätsanalyse

Erster Schritt bei der Beschreibung der Eigenschaften eines dynamischen Systems ist die Berechnung der stationären Zustände und die Untersuchung deren linearer Stabilität. Daraus lassen sich Rückschlüsse auf das Lösungsverhalten und die Topologie des Phasenraums ziehen.

Stationärer Zustand

Die stationären, zeitunabhängigen Lösungen (x_{st}, y_{st}) des Differentialgleichungssystems (3.17), d.h. die Lösungen, für die gilt

$$x(t) \equiv x_{st} \quad \text{und} \quad y(t) \equiv y_{st} \quad \text{für alle } t,$$

genügen den Bedingungen

$$\frac{dx}{dt} = a - xy^2 + cy = 0 \quad (3.18-a)$$

$$\frac{dy}{dt} = b + xy^2 - (c+1)y = 0. \quad (3.18-b)$$

Dieses Gleichungssystem läßt sich einfach lösen, und man erhält als *eindeutigen* stationären Zustand

$$x_{st} = \frac{a + c(a+b)}{(a+b)^2}, \quad y_{st} = a+b. \quad (3.19)$$

Lineare Stabilitätsanalyse – lokale Bifurkationen

Aussagen über die Stabilität des stationären Zustands und mögliche lokale Bifurkationen erhält man aus dem Vorzeichen des Realteils der Eigenwerte der Jacobi-Matrix J von (3.17) am stationären Punkt (Anhang B). Dieser ist stabil, falls beide Eigenwerte einen negativen Realteil haben, andernfalls instabil. Ein Bifurkationspunkt liegt vor, wenn der Realteil mindestens eines Eigenwertes verschwindet.

Unter Verwendung von (3.17) und (3.19) erhalten wir die Jacobi-Matrix

$$\begin{aligned} J_{|st} &= \begin{pmatrix} \frac{\partial \dot{x}}{\partial x} & \frac{\partial \dot{x}}{\partial y} \\ \frac{\partial \dot{y}}{\partial x} & \frac{\partial \dot{y}}{\partial y} \end{pmatrix} \bigg|_{\substack{x=x_{st} \\ y=y_{st}}} \\ &= \begin{pmatrix} -y^2 & -2xy + c \\ y^2 & 2xy - c - 1 \end{pmatrix} \bigg|_{\substack{x=x_{st} \\ y=y_{st}}} \\ &= \begin{pmatrix} -(a+b)^2 & -\frac{2a}{a+b} - c \\ (a+b)^2 & \frac{2a}{a+b} + c - 1 \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (3.20)$$

mit den Eigenwerten

$$\lambda_{1,2} = \frac{1}{2} \left\{ \text{sp} J_{|st} \pm \sqrt{(\text{sp} J_{|st})^2 - 4 \det J_{|st}} \right\}. \quad (3.21)$$

Dabei sind Spur und Determinante von $J_{|st}$ gegeben durch

$$\text{sp} J_{|st} = \frac{2a}{a+b} + c - 1 - (a+b)^2 \quad (3.22)$$

$$\det J_{|st} = (a+b)^2. \quad (3.23)$$

Es gilt $\det J_{|st} > 0$, außer in dem uninteressanten Fall, daß a und b beide null sind.

Daraus lassen sich drei Folgerungen ziehen:

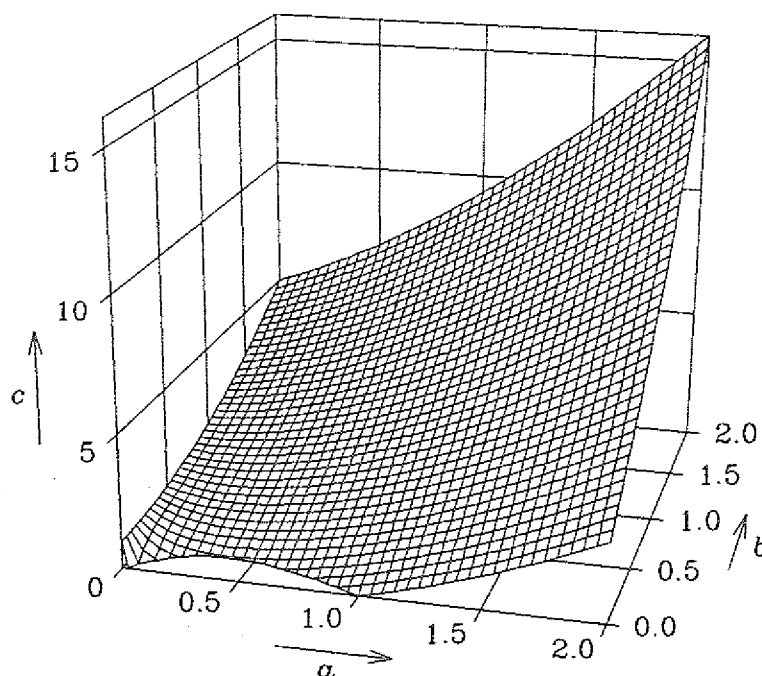


Abb. 3.2: Parameterraum des dynamischen Systems (3.17): Die Hopfbifurkationspunkte bilden die eingezeichnete Fläche. Der stationäre Zustand ist oberhalb der Fläche instabil, unterhalb stabil.

- $\text{sp}J_{|st} > 0$ ist eine notwendige und hinreichende Bedingung dafür, daß der stationäre Zustand instabil ist. Dies folgt für reelle Eigenwerte aus

$$\left| (\text{sp}J_{|st})^2 - 4 \det J_{|st} \right| < (\text{sp}J_{|st})^2. \quad (3.24)$$

Für konjugiert komplexe Eigenwerte ist $\text{Re}\lambda_1 = \text{Re}\lambda_2 = (\text{sp}J_{|st})/2$.

- Der stationäre Punkt kann nur ein Knoten oder Fokus sein, denn für reelle Eigenwerte folgt aus $\lambda_1 \lambda_2 = \det J_{|st} > 0$, daß beide Eigenwerte dasselbe Vorzeichen haben.
- Im Fall $\text{sp}J_{|st} = 0$ tritt eine *Hopfbifurkation* auf (Anhang B). Dies ist die einzig mögliche lokale Bifurkation.

Die Hopfbifurkationspunkte erhalten wir daher direkt aus (3.22). Es gilt

$$c_{bif} = (a + b)^2 + 1 - \frac{2a}{a + b}, \quad (3.25)$$

wobei der stationäre Punkt instabil ist, wenn $c > c_{bif}$ ist. Abb. 3.2 zeigt den Parameterraum des dynamischen Systems (3.17) mit der Fläche $c_{bif} = c(a, b)$. In den Koordinatenebenen sind die Bifurkationspunkte durch

$$\begin{aligned} c_{bif} &= b^2 + 1 && \text{in der } b\text{-}c\text{-Ebene,} \\ c_{bif} &= a^2 - 1 && \text{in der } a\text{-}c\text{-Ebene} \end{aligned}$$

und

$$b_{bif}^3 + 3ab_{bif}^2 + (1 + 3a^2)b_{bif} - (a - a^3) = 0 \quad (3.26)$$

in der a-b-Ebene bestimmt. Als Polynom in b_{bif} hat (3.26) nach der Descartesschen Zeichenregel [42] genau eine positive Nullstelle, falls $a \leq 1$ ist, sonst keine (vgl. Abb. 3.2).

3.3.2 Zeitabhängige Lösungen

Wie für Ratengleichungen chemischer Reaktionen zu fordern ist, besitzen die Gleichungen (3.17) nicht-negative Lösungen. Dies ist einfach zu sehen, denn aus

$$\left. \frac{dx}{dt} \right|_{x=0} \geq 0 \quad \text{und} \quad \left. \frac{dy}{dt} \right|_{y=0} > 0$$

folgt $x(t) \geq 0$ und $y(t) \geq 0$ für alle $t \geq 0$, falls $x(0) \geq 0$ und $y(0) \geq 0$ ist. Der Fall $b = 0$ ist hierbei und im folgenden ausgeklammert, da dann für $y(t) \equiv 0$ und $a > 0$ divergierende Lösungen existieren. Dies wird insbesondere bei einer stochastischen Simulation der Dynamik wichtig, in deren Verlauf Y zufällig „aussterben“ könnte.

Die zeitabhängigen Lösungen von (3.17), die uns besonders interessieren, sind Grenzyklus-Oszillationen. Wegen der Nichtlinearität der Gleichungen können leider keine analytischen Lösungen angegeben werden. Für den Brusselator ($a = 0$) ist allerdings die Existenz von Grenzyklen gezeigt worden: von Lefever und Nicolis durch Transformation von (3.17) auf eine bekannte Differentialgleichung zweiter Ordnung [53] und von Tyson durch Konstruktion eines Poincaré-Bendixon-Gebiets [55]. Wir werden uns hier auf die numerische Lösung der Ratengleichungen beschränken. Dabei wurden Standardverfahren, wie sie zum Beispiel in [56] angegeben sind, verwendet. Alle Rechnungen wurden auf einem PC durchgeführt.

Abb. 3.3 zeigt einen Grenzyklus in einem Parameterbereich, in dem die Oszillationen Merkmale einer Relaxationsoszillation zeigen⁴. Der Grenzyklus läßt sich in drei Phasen einteilen (Abb. 3.3c):

1. Startet man bei kleinen Werten von x und y , ist die Rate der autokatalytischen Reaktion $X + 2Y \rightarrow 3Y$ sehr gering. Nur die Reaktion nullter Ordnung $A \rightarrow X$, verbunden mit einem gleichmäßigen Anwachsen von x , führt zu einer wesentlichen Zustandsänderung.
2. Überwiegt die autokatalytische Reaktion die übrigen Reaktionen, wächst y sehr schnell an, bei gleichzeitiger Relaxation von x .
3. Diese Phase kommt zum Stillstand, wenn alles X „verbraucht“ ist. Danach wird Y durch Reaktionen erster Ordnung abgebaut und das System gelangt zurück in den Ausgangszustand.

⁴Diese Eigenschaft wird sich als wichtig zum Verständnis der Antworten auf einzelne Lichtreize erweisen

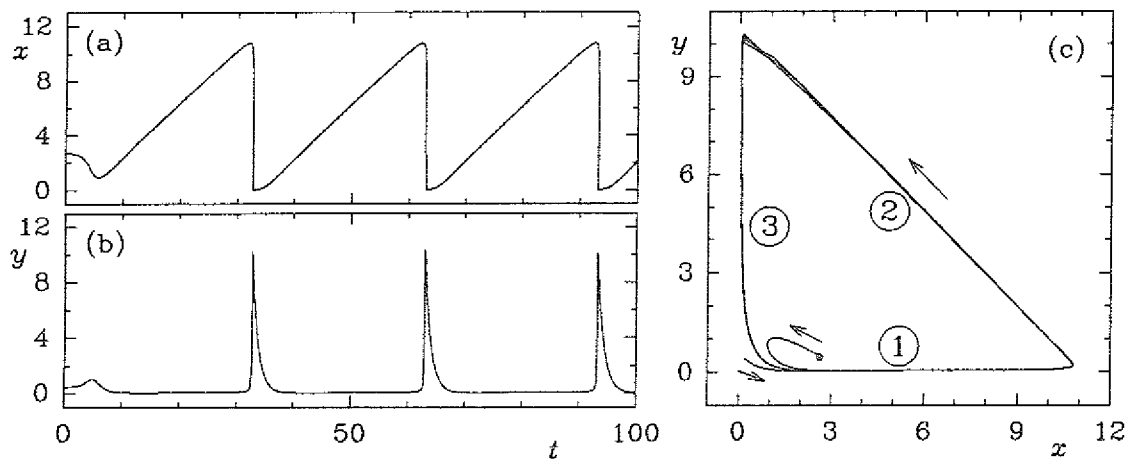


Abb. 3.3: Grenzzyklus-Oszillationen: Zeitserien (a,b) und Phasenportrait (c). Die Ratengleichungen (3.17) wurden für $a = 0.4$, $b = 0.05$ und $c = 0.3$ numerisch integriert mit Startwerten $(x(0), y(0)) = (2.7, 0.45)$ und $(0.2, 0.45)$. Der stationäre Punkt (instabiler Fokus, $\bullet$) ist $(x_{st}, y_{st}) \approx (2.64, 0.45)$. Die Zahlen 1–3 in (c) kennzeichnen die drei Phasen der Oszillation (vgl. Text).

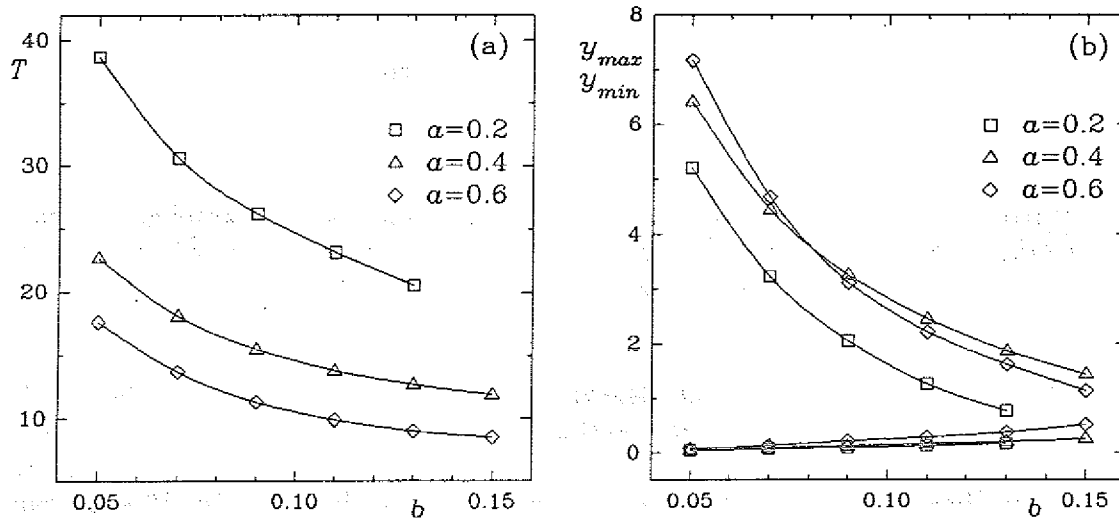


Abb. 3.4: Schwingungsdauer T und Extremwerte von y als Funktion von a und b für $c = 0$.

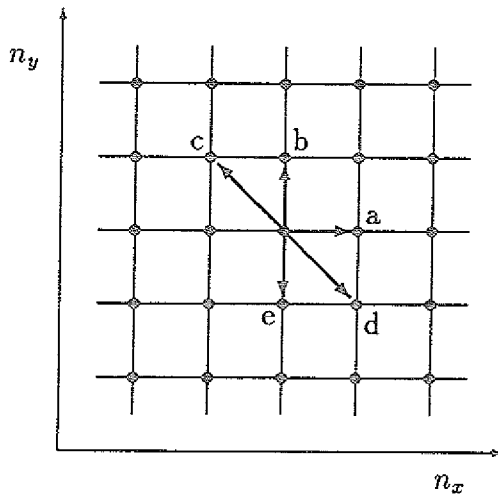


Abb. 3.5: Der Zustandsraum des Reaktionssystems (3.12), die Pfeile entsprechen den fünf möglichen Reaktionen (3.12-a-e).

Abb. 3.4 zeigt die Abhängigkeit der Schwingungsdauer T und der Extremwerte von y von a und b für $c = 0$. T ist im gezeigten Parameterbereich eine monoton fallende Funktion von a und b . Dies läßt sich auch qualitativ verstehen, da es um so länger dauert, bis die autokatalytische Reaktion wesentlich an einer Zustandsänderung beteiligt ist, je langsamer die Konzentration von X und Y zunimmt. Aufgrund derselben Überlegung läßt sich die Abhängigkeit der Amplitude von y von b erklären. Je langsamer y zunimmt, d.h. je kleiner b ist, desto mehr X sammelt sich an, bis ein „Spike“ ausgelöst wird, und desto höher wird er. Abb. 3.4b zeigt außerdem, daß die Oszillationsamplitude um so kleiner wird, je näher die Parameter an der Hopfbifurkation liegen (vgl. Abb. 3.2). Die Extremwerte von x variieren in der gleichen Weise wie die von y .

3.4 Die Master-Gleichung

Zur Formulierung der Master-Gleichung müssen die Übergangswahrscheinlichkeiten $W(n'|n)$ für die Reaktionen (3.12-a-e) angegeben werden. In Abb. 3.5 sind die möglichen Übergänge, die aus einem Zustand (n_x, n_y) herausführen, skizziert. Als Ansatz für die Übergangswahrscheinlichkeiten benutzen wir (3.11). Mit der Normierung von Zeit und Volumen in Einheiten von s und v nach Gleichung (3.16), in Analogie zu den Ratengleichungen, erhält man

$$\begin{aligned} W_a(n_x + 1, n_y | n_x, n_y) &= \Omega a \\ W_b(n_x, n_y + 1 | n_x, n_y) &= \Omega b \\ W_c(n_x - 1, n_y + 1 | n_x, n_y) &= (1/\Omega^2) n_x n_y (n_y - 1) \\ W_d(n_x + 1, n_y - 1 | n_x, n_y) &= c n_y \\ W_e(n_x, n_y - 1 | n_x, n_y) &= n_y \end{aligned} \quad (3.27)$$

Dabei ist Ω das normierte Volumen $\Omega = v^{-1}V$, und es gilt

$$n_x = \Omega x \quad \text{und} \quad n_y = \Omega y. \quad (3.28)$$

Die Mastergleichung läßt sich besonders kompakt mit Leiteroperatoren E schreiben, deren Wirkung auf Funktionen ganzzahliger Argumente durch

$$E_i^k f(\dots, n_{i-1}, n_i, n_{i+1}, \dots) = f(\dots, n_{i-1}, n_i + k, n_{i+1}, \dots) \quad (3.29)$$

definiert ist [37]. Für das Reaktionssystem (3.12) erhalten wir damit unter Verwendung von (3.27)

$$\begin{aligned} \frac{\partial P(n_x, n_y, t)}{\partial t} = & \left\{ (E_x^{-1} - 1) \Omega a + (E_y^{-1} - 1) \Omega b + (E_x^{-1} E_y - 1) c n_y \right. \\ & \left. + (E_x E_y^{-1} - 1) \frac{1}{\Omega^2} n_x n_y (n_y - 1) + (E_y - 1) n_y \right\} P(n_x, n_y, t) \end{aligned} \quad (3.30)$$

mit der Anfangsbedingung

$$P(n_x, n_y, 0) = \delta_{n_x n_x^0} \delta_{n_y n_y^0}.$$

Die Master-Gleichung ist also im Gegensatz zu den Ratengleichungen explizit volumenabhängig, wobei $\sqrt{\Omega}$ ein natürliches Maß für die Größe der Fluktuationen darstellt ([37], Kap. IX). Im thermodynamischen Limes ($n_x, n_y, \Omega \rightarrow \infty$, $(n_x/\Omega), (n_y/\Omega) = \text{const.}$) geht die Beschreibung der Dynamik durch die Master-Gleichung in die makroskopische Beschreibung über.

(3.30) kann als bivariate Master-Gleichung mit nichtlinearen Übergangswahrscheinlichkeiten nicht analytisch gelöst werden. Aus diesem Grund, und um einen direkten Vergleich mit den experimentellen Daten zu ermöglichen, werden im folgenden Realisierungen des zugrundeliegenden stochastischen Prozesses betrachtet.

3.4.1 Simulation des stochastischen Prozesses

Die stochastische Simulation des Reaktionssystems (3.12) entspricht der numerischen Integration der Ratengleichungen (3.17). Ausgehend von einem Anfangszustand (n_x^0, n_y^0) werden unter Verwendung der Übergangswahrscheinlichkeiten (3.27) die Verweildauer im momentanen Zustand und der darauf folgende Zustand zufällig bestimmt. Auf diese Weise erhält man eine Trajektorie im Phasenraum des Systems. Anders als beim Zwei-Zustands-Modell sind dabei die Einzelereignisse nicht Übergänge zwischen den Zuständen CW und CCW, sondern einzelne chemische Reaktionen, die auf einer sehr viel schnelleren Zeitskala passieren. Als Simulationsalgorithmus wird deshalb in diesem Kapitel immer der Gillespie-Algorithmus in der üblichen Form verwendet (Anhang C), bei zeitlich veränderlichen Parametern mit der Annahme, daß die Parameter auf der Zeitskala einer einzelnen Reaktion als konstant angesehen werden können.

Abb. 3.6 zeigt eine Realisierung des stochastischen Prozesses mit denselben Werten für die Parameter a , b und c wie in Abb. 3.3. Man erhält eine verrauschte Oszillation, die dieselben qualitativen Merkmale aufweist wie im deterministischen Fall. Für größere Teilchenzahlen, d.h. für ein größeres Volumen, werden die relativen Fluktuationen kleiner und die Oszillationen immer regelmäßiger.

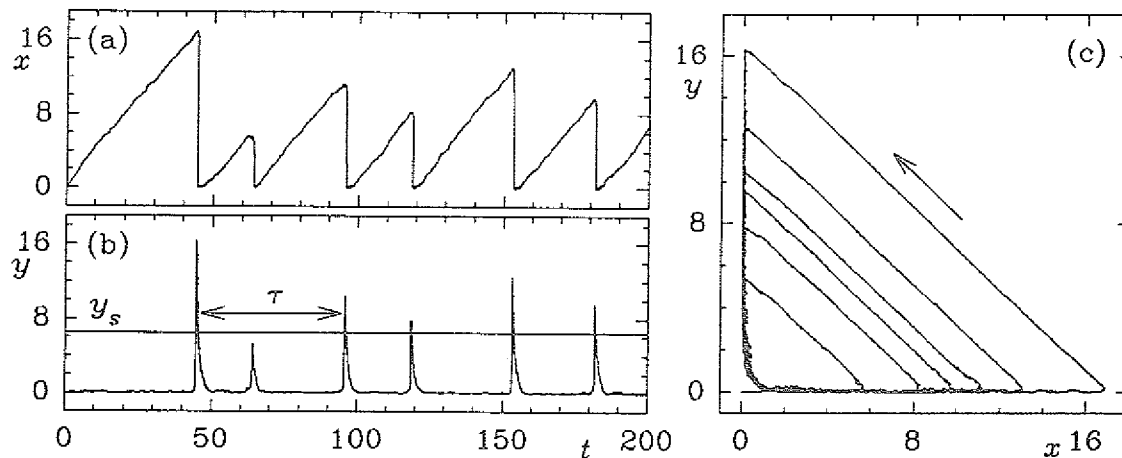


Abb. 3.6: Stochastische Simulation (Gillespie-Algorithmus) des Reaktionssystems für dieselben Parameter wie in Abb. 3.3: $a = 0.4$, $b = 0.05$, $c = 0.3$, $\Omega = 30$ mit Startpunkt $(0,0)$. Eingezeichnet ist auch eine Schaltschwelle y_s , bei deren Überschreiten ein Umkehrereignis ausgelöst wird. Die Länge τ eines Schwimmintervalls wird in der skizzierten Weise bestimmt.

3.5 Simulation des Schwimmverhaltens

In den folgenden Abschnitten soll im Rahmen des oben vorgestellten Modells das Schwimmverhalten von Halobakterien simuliert werden. Konkret heißt das: Wir werden Verteilungen der Länge von Schwimmintervallen für unterschiedliche externe Bedingungen berechnen und mit den experimentellen Daten vergleichen. Die Schwimmintervalle werden auf der Basis der in Kap. 3.1.1 formulierten Annahmen mit Hilfe von Simulationen des Reaktionssystems bestimmt. Dabei wird immer angenommen, daß Y die Schaltsubstanz ist (Abb. 3.6b). Durch die Einführung einer unteren Schwelle y_m (in Abb. 3.6 z.B. $y_m = 1$) wird ein Umkehrereignis durch einzelne Spikes ausgelöst. Es ist jedoch wichtig zu bemerken, daß die Länge τ eines Schwimmintervalls nicht immer mit dem Abstand zweier aufeinanderfolgender Spikes identisch ist. Es kann zu „Aussetzern“ kommen.

Entsprechend der Annahme, daß es bei Halobakterien einen intrazellulären Oszillator gibt, werden die Parameter a , b und c so gewählt, daß das System deterministisch Grenzyklusoszillationen zeigt. Dadurch wird gleichzeitig der Konzentrationsbereich festgelegt, in dem die Reaktionen ablaufen. Das Systemvolumen Ω wird dann unter Verwendung von Gleichung (3.28) so gewählt, daß die Teilchenzahlen in dem in Kap. 1.2.2 abgeschätzten Bereich liegen. So bewegen sie sich für das Beispiel in Abb. 3.6 etwa zwischen 0 und 500.

3.5.1 Spontanintervallverteilungen

In Analogie zu den Experimenten wird unter einer Spontanintervallverteilung die Verteilung von Schwimmintervallen unter stationären äußeren Bedingungen verstanden, d.h. für konstante Parameter a , b und c . Die Abbildungen 3.7–3.9 zeigen, als Funktion

der Schaltschwelle, simulierte Verteilungen für dieselben Parameterwerte wie in Abb. 3.6. Es handelt sich dabei um das Ergebnis einer *einzigsten* Simulation, bei der 1674 Spikes höher als $y_s = 3.5$ (Abb. 3.7), 1468 höher als $y_s = 6.5$ (Abb. 3.8) und 883 höher als $y_s = 10$ (Abb. 3.9) waren.

Das qualitative Aussehen der Verteilungen variiert stark in Abhängigkeit von der Schaltschwelle. Für die mittlere Schwelle erhält man eine asymmetrische Verteilung, die etwa ab ihrem Maximum näherungsweise exponentiell abfällt (Abb. 3.8). Sie stimmt qualitativ mit einer typischen, experimentellen Verteilung (Abb. 1.1a) recht gut überein, ist jedoch etwas schärfer. Experimentell liegen die kürzesten, beobachtbaren Schwimmintervalle zwischen einem Drittel und der Hälfte des wahrscheinlichsten Schwimmintervalls, bei der simulierten Verteilung deutlich näher am Maximum. In Kap. 4.3 wird ein Modellansatz vorgestellt, der es erlaubt, die experimentelle Verteilung quantitativ zu beschreiben, so daß diese Aussage dann präzisiert werden kann (vgl. Abb. 4.4).

Die Variabilität der experimentellen Verteilungen findet sich auch bei den Simulationen. Bei einer niedrigeren Schaltschwelle erhält man eine weniger asymmetrische Verteilung, deren fallende Flanke nicht durch eine Exponentialfunktion beschrieben werden kann (vgl. Abb. 1.1b und 3.7). Da weniger Aussetzer auftreten, gibt es häufiger kurze und seltener lange Schwimmintervalle (siehe auch Abb. 3.6). Eine Erhöhung der Schaltschwelle führt hingegen zu einem verstärkten Auftreten von Aussetzern und damit zu weiteren Maxima in der Verteilung (Abb. 3.9a). Dieser Effekt spielt eine entscheidende Rolle im nächsten Abschnitt.

3.5.2 Stufenweise Variation eines Kontrollparameters

Den Modellannahmen gemäß entspricht die stufenweise Veränderung eines Kontrollparameters auf (dann) feste Werte den Experimenten, bei denen einer Bakteriensuspension IBMX in unterschiedlichen Konzentrationen beigelegt wurde. Wir nehmen an, daß die Zugabe von IBMX eine Veränderung von b verursacht. Da IBMX neben dem Entstehen von Punktmustern in den Next-period-Plots zu einer Verkürzung der Schwimmintervalle führt (Abb. 1.8), muß b als Funktion der IBMX-Konzentration zunehmen (Abb. 3.4).

Abb. 3.10 zeigt eine Folge von simulierten Next-period-Plots, bei denen nur der Wert von b verändert wurde. Es entstehen Punktmuster, die den experimentellen Daten sehr ähnlich sind. Ursache für die Entstehung dieser Muster ist, daß sich das System mit zunehmendem b einer Hopfbifurkation nähert (Abb. 3.11). Damit verknüpft ist eine Abnahme der Oszillationsamplitude, so daß bei fester Schaltschwelle y_s Aussetzer mit erhöhter Wahrscheinlichkeit vorkommen, was zu äquidistanten Punkten in den Next-period-Plots führt. Jenseits der Hopfbifurkation löst sich das Muster auf. Wie in den Experimenten kommen jedoch noch häufig kurze Schwimmintervalle mit einer deutlichen unteren Grenze vor. Da der Fixpunkt in der Nähe der Bifurkation nur schwach anziehend ist, treten hier große, kritische Fluktuationen auf [57]. Gelangt das System weit unter die x -Nullisokline⁵ der Ratengleichungen (3.17), kann es zur Entwicklung

⁵Die x -(y)-Nullisokline bezeichnet die Menge aller Punkte in der Phasenebene, für die $\dot{z}(y) = 0$ ist. Trajektorien können sie deshalb nur parallel zur y -(x)-Achse schneiden.

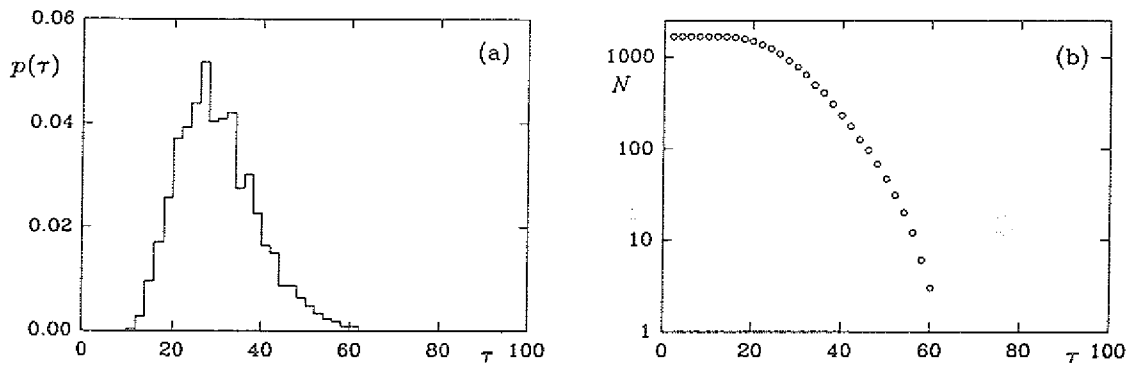


Abb. 3.7: Spontanintervallverteilung für $a = 0.4$, $b = 0.05$, $c = 0.3$ und $\Omega = 30$ mit den Schwellwerten $y_s = 3.5$ und $y_m = 1$ (a): relative Häufigkeitsverteilung $p(\tau)$ für insgesamt $N_{ges} = 1673$ Schwimmintervalle. (b): Anzahl N von N_{ges} Intervallen, die länger als τ sind.

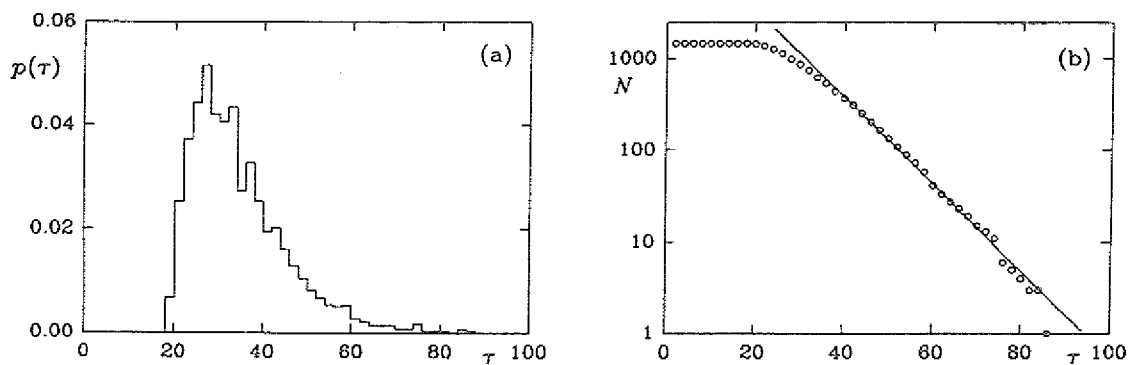


Abb. 3.8: Spontanintervallverteilung für dieselben Parameter wie in Abb. 3.7, jedoch mit der höheren Schaltschwelle $y_s = 6.5$ (vgl. Abb. 3.6). (a): relative Häufigkeitsverteilung für insgesamt $N_{ges} = 1467$ Schwimmintervalle. (b): Anzahl N von N_{ges} Intervallen, die länger als τ sind. Die Verteilung fällt näherungsweise exponentiell ab.

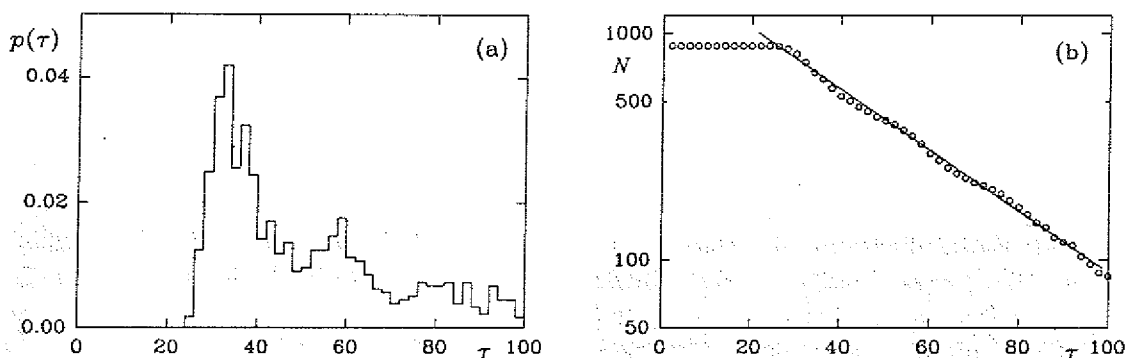


Abb. 3.9: Spontanintervallverteilung für dieselben Parameter wie in Abb. 3.7, jedoch mit der höheren Schaltschwelle $y_s = 10$. (a): relative Häufigkeitsverteilung für insgesamt $N_{ges} = 882$ Schwimmintervalle. (b): Anzahl N von N_{ges} Intervallen, die länger als τ sind. Die Verteilung fällt „im Mittel“ exponentiell ab.

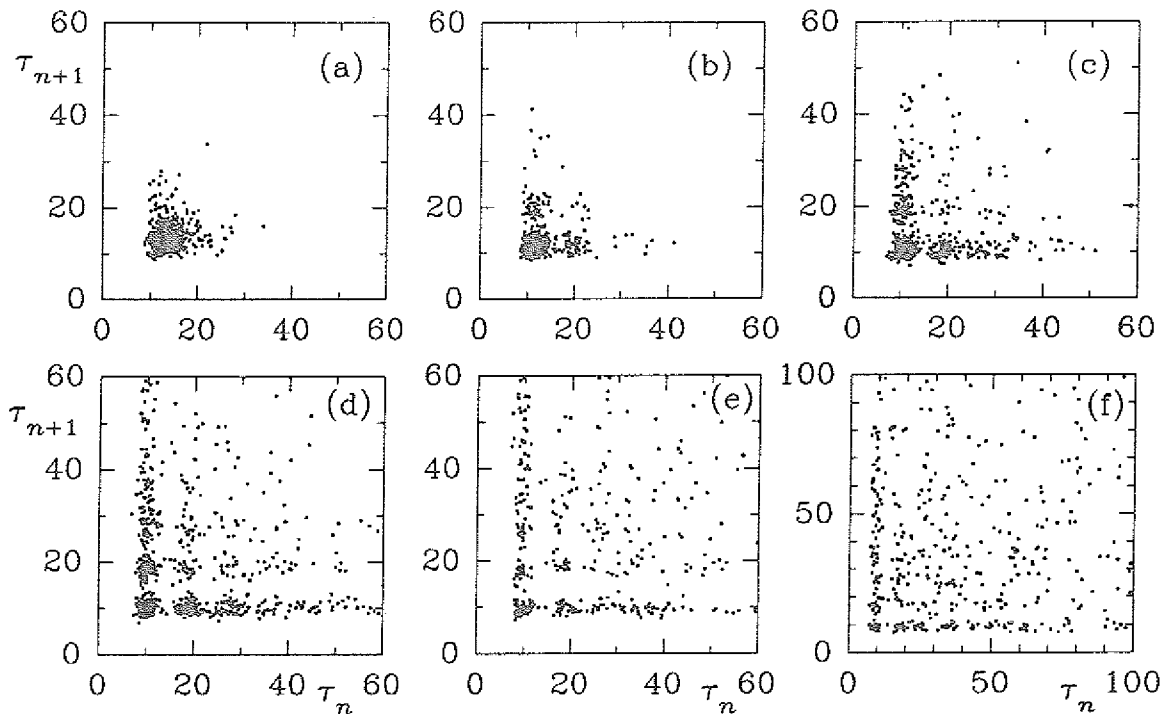


Abb. 3.10: Simulierte Next-period-Plots für $a = 0.6$, $b = 0.07$ (a), 0.09 (b), 0.11 (c), 0.13 (d), 0.15 (e), 0.17 (f), $c = 0$ und $\Omega = 100$ mit den Schwellwerten $y_s = 1.9$ und $y_m = 1$.

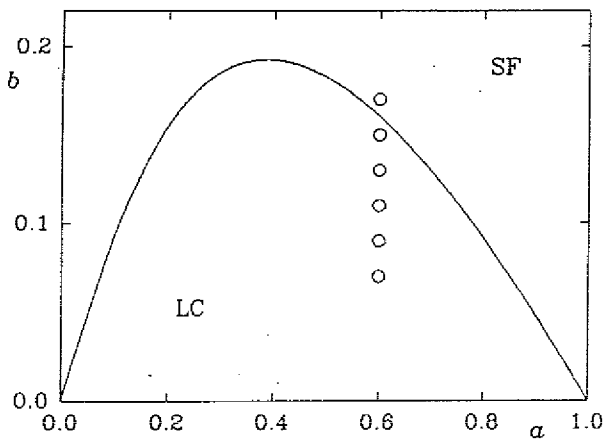


Abb. 3.11: Phasendiagramm des Oszillators für $c = 0$: Die Kurve bezeichnet Hopfbifurkationspunkte. Oberhalb existiert ein stabiler Fokus (SF), unterhalb ein stabiler Grenzzyklus (LC, Limit cycle). Die zusätzlich eingezeichneten Punkte entsprechen der Folge von Parameterwerten für die Next-period-Plots in Abb. 3.10.

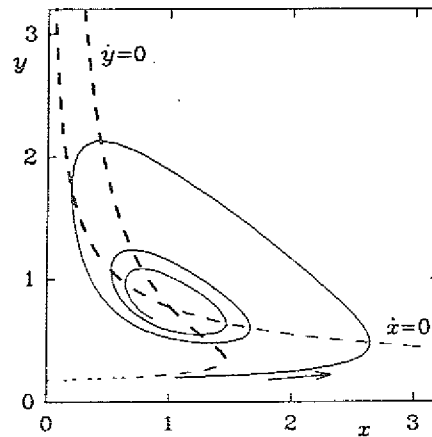


Abb. 3.12: x - und y -Nullisokline der Ratengleichungen (3.17) für $a = 0.6$, $b = 0.17$, $c = 0$ und spezielle Lösung mit Startpunkt $(x_0, y_0) = (1, 0.2)$.

eines Spikes der richtigen Höhe kommen (Abb. 3.12). Abgesehen von der Existenz einer geschlossenen Trajektorie ist dabei der Verlauf der Trajektorien nicht wesentlich verändert. Ursache für die untere Grenze der Schwimmintervalle ist die feste Schaltschwelle. Die Konzentration von X muß weit genug anwachsen, damit y die Schwelle erreichen kann. Es besteht eine starke, positive Korrelation zwischen den Maximalwerten von x und y (vgl. Abb. 3.6c).

Das Auftreten der Punktmuster ist somit ein rein *stochastischer Effekt*. Deterministisch würden Umkehrereignisse entweder mit festem Abstand auftreten, wenn $y_{\max} < y_s$ ist, oder überhaupt nicht.

Auf diese Weise nicht verstanden werden kann zum einen die Entstehung komplexerer Muster wie in Abb. 1.8e'. Dieser Punkt kann in dieser Arbeit auch nicht geklärt werden. Zum anderen kann mit diesem Ansatz die Reduktion der Streuung der Schwimmintervalle bei Zugabe kleiner IBMX-Konzentrationen (Abb. 1.8a',b') nicht verstanden werden. Zur Erzeugung von Punktmustern in Next-period-Plots muß man von einer Verteilung ausgehen, die scharf genug ist. So zeigt die Verteilung in Abb. 3.9 zwar mehrere Maxima, in dem zugehörigen Next-period-Plot führt das jedoch nicht zu deutlich voneinander getrennten Flecken. Eine Möglichkeit, von einer Spontanintervallverteilung wie in Abb. 3.8 ausgehend die IBMX-Experimente zu erklären, wäre, daß IBMX *mehrere* Parameter, einschließlich der Schaltschwelle beeinflusst⁶ und so die Oszillation in einen Parameterbereich verschiebt, in dem die Spontanintervallverteilung einen weniger ausgeprägten Schwanz hat als unter „normalen“ Bedingungen. An der Interpretation, daß die Punktmuster bei den IBMX-Experimenten durch Aussetzer zustande kommen, ändert sich dabei nichts.

3.5.3 Antwort auf einzelne Lichtreize

Wie beim Zwei-Zustands-Modell werden einzelne Lichtreize durch eine transiente Änderung eines Kontrollparameters simuliert. Wir nehmen auch bei Lichtreizen an, daß b der beeinflusste Parameter ist. D.h., $b = \text{const.}$ wird ersetzt

$$b(t, t_{\text{stim}}) = b_0 [1 - \mu s(t - t_{\text{stim}})] \quad (3.31)$$

ersetzt. Dabei ist $1 \geq \mu > 0$ für Attractant-Reize und $\mu < 0$ für Repellent-Reize. t_{stim} ist der Zeitpunkt, zu dem der Reiz gegeben wird, relativ zum Referenz-Umkehrereignis (vgl. Abb. 1.3). Für das intrazelluläre Signal $s(t)$ machen wir wieder einen phänomenologischen Ansatz mit der Bedingung $0 \leq s(t) \leq 1$:

$$s(t) = \begin{cases} 0 & \text{für } t \leq 0 \\ kt \exp(-kt + 1) & \text{für } t > 0. \end{cases} \quad (3.32)$$

Abb. 3.13 zeigt den Verlauf von $s(t)$. Die Lebensdauer des Signals läßt sich durch entsprechende Wahl von k variieren. Bei den Simulationen wird k so gewählt, daß das Signal etwa zwei Schwimmintervalle lang andauert (vgl. Kap. 1.1.1).

⁶Siehe auch Kap. 3.6 in diesem Zusammenhang.

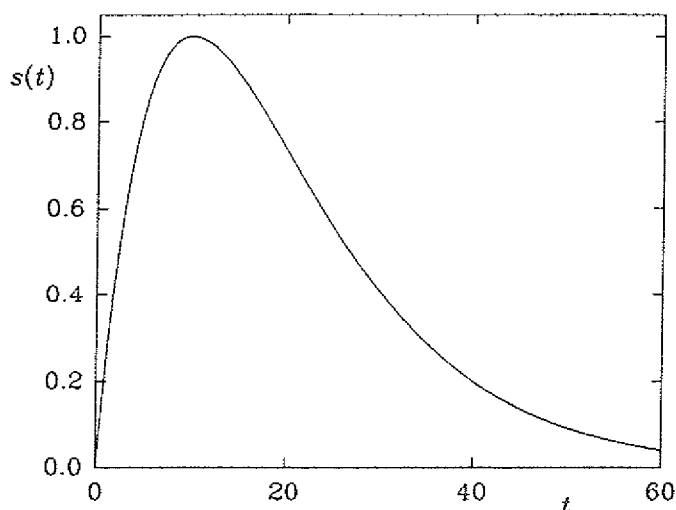


Abb. 3.13: Zeitlicher Verlauf von $s(t)$ Gl. (3.32) für $k = 0.1$, wie es für die Simulationen in Abb. 3.14 und 3.16 verwendet wurde. Das Maximum der Schwimmintervallverteilung liegt dort etwa bei 30 (vgl. Abb. 3.7 und 3.8).

Phasen-Antwort-Plots

Die Simulation der Phasen-Antwort-Plots erfolgt auf dieselbe Weise, wie beim Zwei-Zustands-Modell, in Analogie zu den Experimenten. Je nachdem, ob ein Schwimmintervall τ länger oder kürzer als t_{stim} ist, erhält man also wieder vom Reiz beeinflusste und spontane Schwimmintervalle. Wegen der schärferen Spontanintervallverteilungen treten, im Vergleich zu den experimentellen Daten, die Spontanintervalle allerdings erst bei höheren t_{stim} auf.

Ausgehend von der Spontanintervallverteilung in Abb. 3.8, zeigen die Antworten auf Attractant-Reize (Abb. 3.14) qualitativ dieselben Merkmale wie die experimentellen Daten (Abb. 1.4): (i) Bei Ereignissen, für die $\tau > t_{stim}$ ist, kann zwischen Attractant-Antworten und Antworten, die sich von Spontanintervallen nicht wesentlich unterscheiden, differenziert werden; (ii) Die Breite der Lücke zwischen diesen unterschiedlichen Antworten ist von der Reizstärke abhängig. Im Gegensatz zum Zwei-Zustands-Modell ist das Auftreten zweier Arten von Antworten mit $\tau > t_{stim}$ jedoch nicht nur auf die Anstiegsphase von $s(t)$ zurückzuführen. Wenngleich wesentlich schwächer, tritt dieser Effekt auch bei einer Simulation mit einem Signal $s(t)$, das für $t = t_{stim}$ maximal ist, auf (Abb. 3.15). Das Aussehen der Phasen-Antwort-Plots ist außerdem nicht unabhängig von den Parameterwerten. In anderen Parameterbereichen ist die Übereinstimmung der simulierten Plots mit den experimentellen Daten wesentlich schlechter (als Beispiel siehe Abb. 3.17a).

Die Repellent-Antworten zeigen ebenfalls eine qualitativ gute Übereinstimmung mit den Experimenten (Abb. 1.5), falls man von einer, im Vergleich zum Spontanverhalten, niedrigeren Schaltschwelle ausgeht (Abb. 3.16). Für kleine t_{stim} zeigt sich eine deutliche Verbreiterung der Verteilung (Refraktärzeit). Mit Erhöhung der Reizstärke entsteht

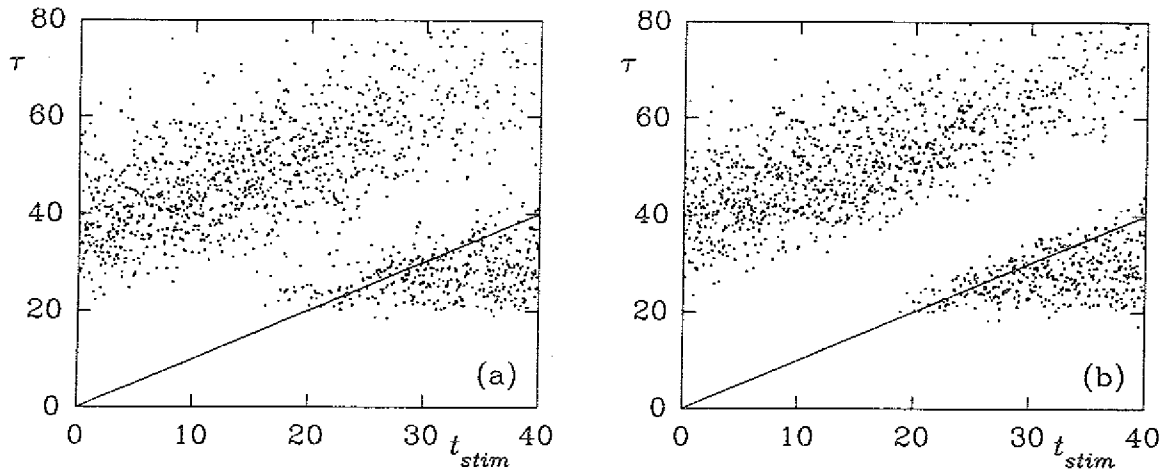


Abb. 3.14: Antwort auf Attractant-Reize mit dem Signal $s(t)$ Gl. (3.32): zu 500 Reizzeitpunkten t_{stim} wurden jeweils 3 Schwimmintervalle τ berechnet mit $\mu = 0.8$ (a), $\mu = 1$ (b), $k=0.1$, $a = 0.4$, $b_0 = 0.05$, $c = 0.3$, $\Omega = 30$, $y_s = 6.5$ und $y_m = 1$.

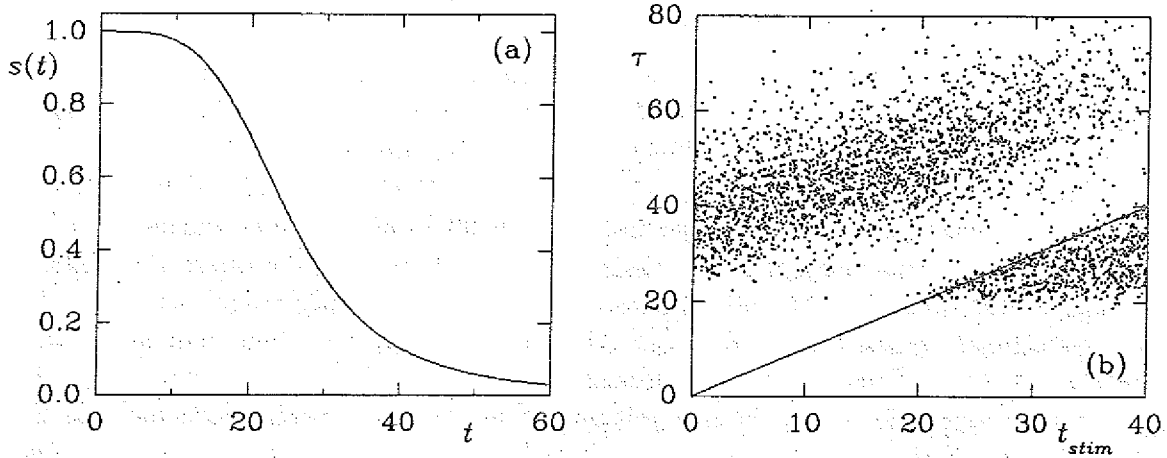


Abb. 3.15: Antwort auf Attractant-Reize, jedoch mit dem Signal $s(t) = 1/[1 + (t/K)^4]$ für $t > 0$ (a) anstatt Gl. (3.32): 500×6 Schwimmintervalle für dieselben Parameter wie in Abb. 3.14a und $K = 25$ (b).

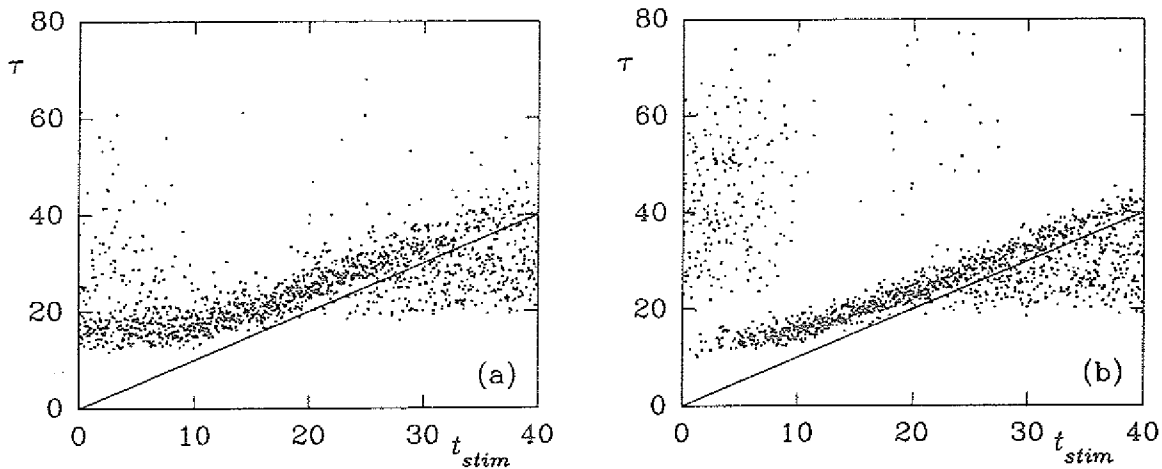


Abb. 3.16: Antwort auf Repellent-Reize mit dem Signal $s(t)$ Gl. (3.32): 500×3 Schwimmintervalle für $\mu = -2$ (a), $\mu = -4$ (b), $y_s = 6.5$, falls $\tau < t_{stim}$, $y_s = 3.5$, falls $\tau \geq t_{stim}$, sonst wie in Abb. 3.14.

in diesem Bereich eine Lücke zwischen direkt induzierten und verzögerten Antworten (Abb. 3.16b). Für größere t_{stim} treten die Umkehrereignisse im Mittel etwa mit konstantem, zeitlichem Abstand nach dem Reiz auf (s.u.). Die Annahme einer niedrigeren Schaltschwelle nach einem Repellent-Reiz, läßt sich auf der Basis des Oszillatormodells als Empfindlichkeitssteigerung des System interpretieren. Es gibt für diese Annahme bisher jedoch keine experimentelle Rechtfertigung, sie ist eine Konsequenz der Simulationen. Rechnet man mit einer konstanten Schaltschwelle, erhält man für sonst gleiche Parameter Phasen-Antwort-Plots mit einer verlängerten Refraktärzeit (vgl. Abb. 3.16a und 3.17b).

Phasenabhängigkeit der Antworten

Eine Mittelung über die Phasen-Antwort-Plots ermöglicht eine genauere Diskussion der Frage, ob neben der Refraktärzeit für Repellent-Reize noch weitere Phasenabhängigkeiten der Antworten auf einzelne Lichtreize zu beobachten sind. Abb. 3.18 zeigt die Mittelung der Simulationen in Abb. 3.14a und 3.16a über jeweils 10 aufeinander folgende Werte von t_{stim} , d.h. insgesamt über jeweils 30 Punkte. Dabei wurden in Abb. 3.14a nur Attractant-Antworten berücksichtigt (Mittelung über die obere Population, $\tau > t_{stim} + 10$), in Abb. 3.16a alle Antworten mit $\tau > t_{stim}$. Aufgetragen ist die (mittlere) *Effektivität* eines Reizes, d.h. der Abstand $\tau - t_{stim}$ zwischen dem auf $t = 0$ folgenden Umkehrereignis und dem Reizzeitpunkt t_{stim} , als Funktion von t_{stim} . Die lineare Regression der durch Kreise gekennzeichneten Mittelwerte zeigt, daß die Effektivität von Attractant- wie auch von Repellent-Reize mit wachsendem t_{stim} langsam kleiner wird (Steigung der Regressionsgeraden ist $m \approx -0.16$ für Att.-Reize und $m \approx -0.06$ für Rep.-Reize). Dieser Effekt ist für Repellent-Reize deutlich kleiner als für Attractant-Reize und im Einklang mit experimentellen Daten [6, 19]. Die leichte Phasenabhängigkeit der Attractant-Antworten ist hingegen *nicht* in Übereinstimmung mit den Experimenten. Eine gleichartige Mittelung über die experimentellen Phasen-Antwort-Plots ergibt als Steigung für die Regressionsgeraden $m \approx 0$ [19, 20]. Man

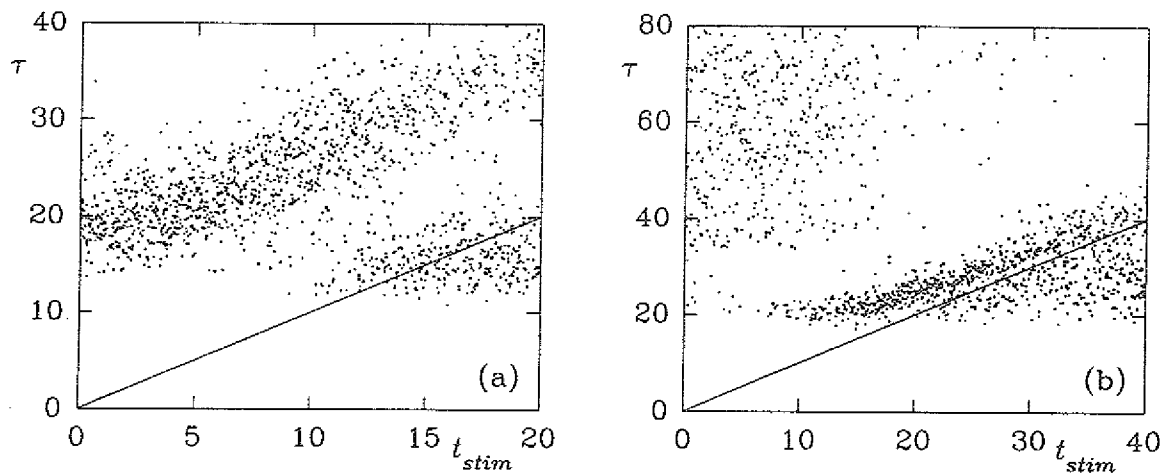


Abb. 3.17: Antwort auf Attractant- und Repellent-Reize mit dem Signal $s(t)$ Gl. (3.32) in einem anderen Parameterbereich bzw. für eine andere Schaltschwelle: 500×3 Schwimmerintervalle für (a) $a = 0.4$, $b_0 = 0.1$, $c = 0$, $\Omega = 30$, $\mu = 0.8$, $k = 0.2$, $y_s = 2.6$ und $y_m = 1$. Das Maximum der Spontanzeitverteilung liegt hier etwa bei $\tau = 15$. (b) dieselben Parameter wie in Abb. 3.16a, jedoch mit der höheren Schwelle $y_s = 6.5$ für alle τ .

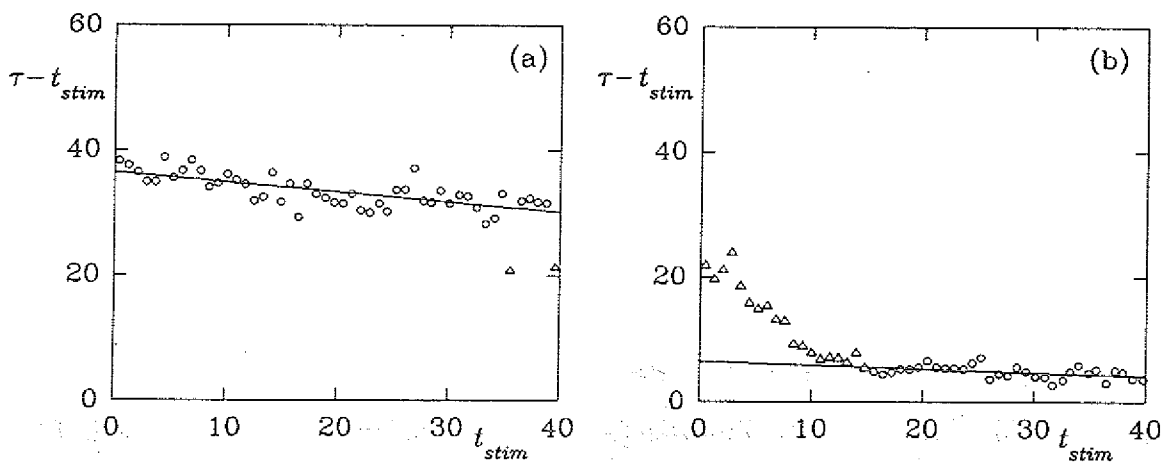


Abb. 3.18: Gemittelte Phasen-Antwort-Plots: (a) Mittelung der Simulation in Abb. 3.14a, (b) Mittelung der Simulation in Abb. 3.16a über jeweils 30 aufeinanderfolgende Punkte (siehe Text). Für die mit $\circ$ geplotteten Werte wurden Regressionsgeraden berechnet (Steigung $m = -0.16$ (a) bzw. $m = -0.06$ (b)). Im Gegensatz zu den bisherigen Plots ist auf der Ordinate nicht der Zeitpunkt eines Umkehrereignisses, sondern dessen Abstand vom Reiz aufgetragen!

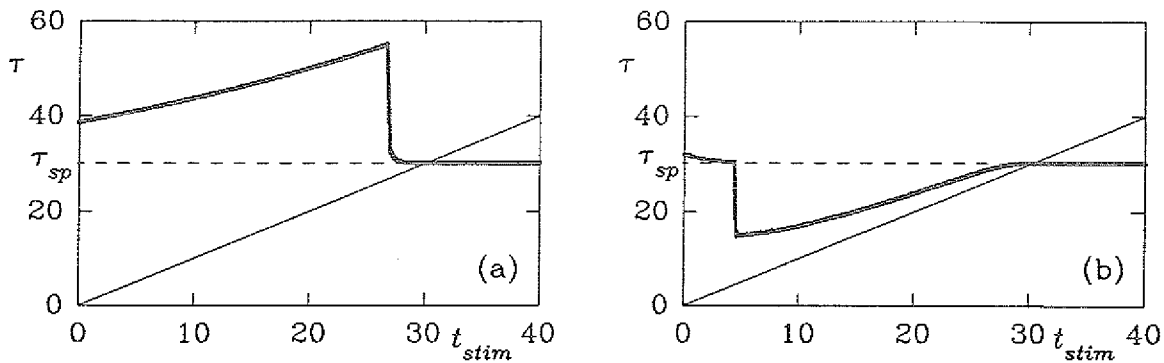


Abb. 3.19: Deterministische Phasen-Antwort-Kurven: Attractant- (a) und Repellent-Antworten (b) für dieselben Parameter wie in Abb. 3.14a und 3.16a.

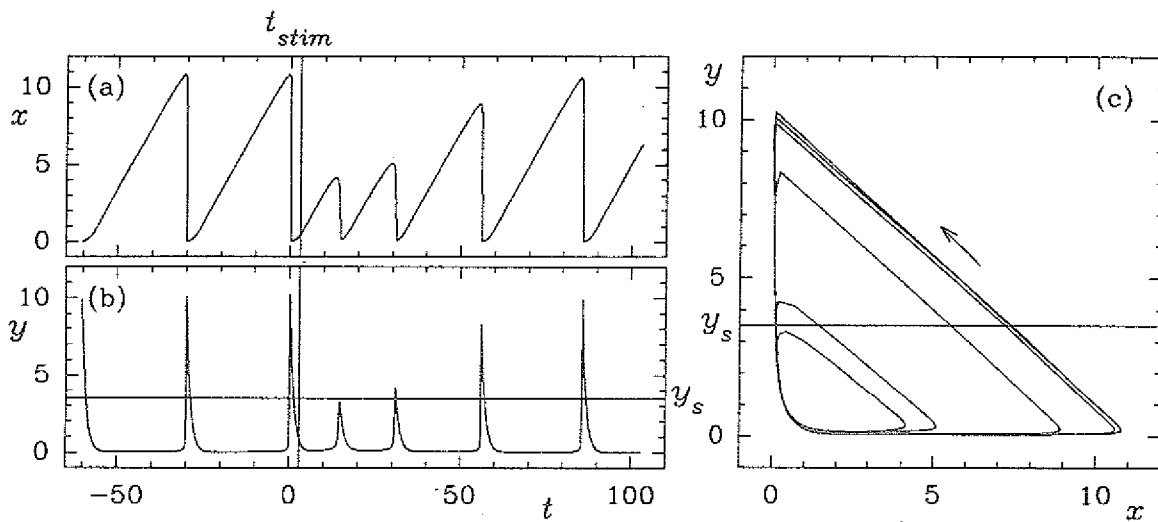


Abb. 3.20: Deterministische Antwort auf einen Repellent-Reiz kurz nach einem Umkehrereignis bei $t = 0$. Die eingezeichneten Linien markieren den Reizzeitpunkt $t_{stim} = 3$ und die Schaltschwelle für die Repellent-Reize $y_s = 3.5$.

beobachtet also keine Korrelation zwischen dem Reizzeitpunkt und der Effektivität von Attractant-Antworten.

Vergleich mit deterministischen Phasen-Antwort-Kurven

Phasen-Antwort-Kurven sind das deterministische Pendant zu den stochastischen Phasen-Antwort-Plots und sehr hilfreich bei der Interpretation der Ergebnisse der Simulationen. Sie wurden durch numerische Integration der Differentialgleichung (3.17) berechnet, nach Substitution von $b = const.$ durch $b(t, t_{stim})$ Gl. (3.31).

Attractant-Kurven (Abb. 3.19a): Bezeichnen wir mit τ_{sp} die unbeeinflusste Oszillationsperiode, so ist für alle $t_{stim} \geq \tau_{sp}$ die Länge des bei $t = 0$ beginnenden Schwimmintervalls $\tau = \tau_{sp}$. Für $t_{stim} < \tau_{sp}$ bewirkt die transiente Erniedrigung von b eine Verlängerung der Oszillationsperiode, man erhält also Schwimmintervalle $\tau > \tau_{sp}$. Allerdings

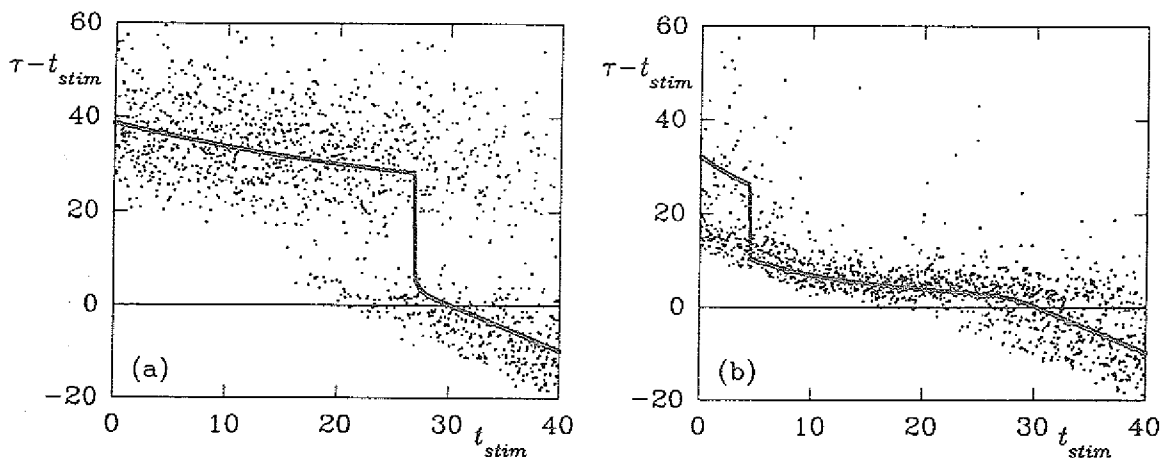


Abb. 3.21: Effektivität der Attractant- (a) und Repellent-Reize (b) in Abb. 3.14a und 3.16a mit den entsprechenden, deterministischen Kurven.

nimmt die Effektivität eines Reizes ab, je später er gegeben wird (die mittlere Steigung der Phasen-Antwort-Kurve ist $m < 1$). Erfolgt der Reiz kurz vor einem Umkehrereignis ($t_{stim} \lesssim \tau_{sp}$), wenn die autokatalytische Reaktion wesentlich zu einer Zustandsänderung beiträgt, hat der Reiz praktisch keinen Einfluß mehr auf die Dauer des Schwimmintervalls. In den Ratengleichung (3.17) kann b gegenüber xy^2 vernachlässigt werden. Aus diesem Grund treten auch dann zwei unterschiedliche Antworten auf einzelne Reize auf, wenn das Signal $s(t)$ zum Zeitpunkt $t = t_{stim}$ maximal ist (Abb. 3.15).

Repellent-Kurven (Abb. 3.19b): Bei Repellent-Reizen führt die transiente Erhöhung von b zur vorzeitigen Auslösung eines Spikes. Die Amplitude des Spikes ist dabei umso kleiner, je kleiner die Konzentration von X ist, d.h. je früher der Reiz gegeben wird. Erfolgt der Reiz am Anfang eines Schwimmintervalls, erreicht der Spike daher nicht die Schaltschwelle y_s , und das Umkehrereignis wird erst durch den darauffolgenden Spike ausgelöst (Abb. 3.20). Dieser Effekt verursacht das Auftreten einer Refraktärzeit bei Repellent-Reizen, deren Länge natürlich von der Höhe der Schaltschwelle abhängt (vgl. Abb. 3.16a und 3.17b). Deterministisch beobachtet man einen scharfen Übergang zwischen „refraktären“ ($\tau \gtrsim \tau_{sp}$) und „normalen“ ($\tau < \tau_{sp}$) Repellent-Antworten. Stochastisch beobachtet man aufgrund von Fluktuationen beide Antworten während der Refraktärzeit und damit eine breite Schwimmintervallverteilung (Abb. 3.16a). Bei stärkeren Reizen sind die Antworten durch eine Lücke in der Verteilung voneinander getrennt (Abb. 3.16b). Simulation und Experiment lassen also bezüglich der Refraktärzeit eine einheitliche Interpretation zu: Das Auftreten einer Refraktärzeit kann auf Aussetzer zurückgeführt werden (vgl. Kap. 1.1.1). Die Zurückführung der Refraktärzeit auf Eigenschaften des Oszillators ist außerdem konsistent damit, daß sich während und nach der Refraktärzeit gegebene Repellent-Reize bei einer Reizintegration nicht unterscheiden [21].

Die Phasen-Antwort-Plots sind nicht einfach verrauschte Phasen-Antwort-Kurven. Deterministisch gerechnet nimmt die Effektivität eines Reizes als Funktion von t_{stim}

schneller ab, als bei der Berücksichtigung von Fluktuationen⁷ (Abb. 3.21). Der Einfluß der Fluktuationen verbessert also die Übereinstimmung der Simulationen mit dem Experiment und ist daher auch bei der Antwort auf einzelne Lichtreize ein wesentlicher Aspekt der Dynamik des Systems.

Die Verringerung der Korrelationen zwischen Zeitpunkt und Effektivität eines Reizes kann so interpretiert werden, daß Information darüber, wann der nächste Spike auftritt, durch Fluktuationen während der Phase 1 der Oszillation (vgl. Abb. 3.3) zerstört wird. Eine starke Korrelation zwischen aufeinanderfolgenden Zuständen tritt erst wieder mit dem Einsetzen der autokatalytischen Reaktion auf (siehe auch Abb. 3.6). Der Effekt sollte umso deutlicher sein, je kleiner y während der Phase 1 ist. Dies ist zugleich eine mögliche Begründung dafür, daß die Antworten auf einzelne Lichtreize schlechter reproduzierbar sind, wenn man von einer glatteren Oszillation ausgeht (in Abb. 3.17a wurde durch Erhöhung von b und Verminderung von c das Anwachsen von y beschleunigt).

3.5.4 Antwort auf periodische Lichtreize

Mode-locking (oder Entrainment) ist ein typisches Phänomen für nichtlineare Oszillatoren unter dem Einfluß einer äußeren, periodischen Kraft (siehe z.B. [58]). Man kann deshalb erwarten, daß solche Effekte auch im Oszillatormodell beobachtbar sind. Der Einfachheit halber wählen wir als periodische Stimulierung

$$b(t) = b_0 \left[1 - \mu \sin \left(\frac{2\pi t}{T} \right) \right]. \quad (3.33)$$

Die folgenden Simulationen entsprechen so eher den Experimenten von Lucia et al. mit einer sinusförmigen Variation der Lichtintensität [24, 25] als den Experimenten von Schimz und Hildebrand mit stufenförmigen Reizen [23].

Next-period-Plots

Ausgehend von der Spontanintervallverteilung in Abb. 3.8 erhält man die Folge von Next-period-Plots in Abb. 3.22. Bei Stimulierung des Systems (Bild b–f) wurde dabei eine erniedrigte Schaltschwelle angenommen, da die Verrechnung aufeinanderfolgender Attractant- und Repellent-Reize netto eine Repellent-Antwort ergibt [21]. Das Oszillatormodell erlaubt eine gute Beschreibung des Verhaltens der Bakterien bei periodischen Lichtreizen in denselben Punkten wie das Zwei-Zustands-Modell: (i) die Reduktion der Streuung und das Entrainment, (ii) die Aufspaltung der Punktwolken in mehrere Flecke, die etwa bei ganzzahligen Vielfachen von T liegen, und (iii) die Verschiebung des Maximums der Verteilung von $\tau \approx T$ zu $\tau \approx 2T$, wenn T etwas kleiner als die Hälfte des häufigsten Spontanintervalls ist. In dem in Abb. 3.22 abgedeckten Frequenzbereich treten jedoch auch beim Oszillatormodell keine Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen auf (Abb. 3.22 und 3.23). Deterministisch gibt es zwar

⁷Beschränkt man sich bei Repellent-Reizen auf $t_{stim} \gtrsim 15$, verlaufen für $\tau - t_{stim} > 0$ die Punktwolken flacher als die deterministischen Kurven (Abb. 3.21).

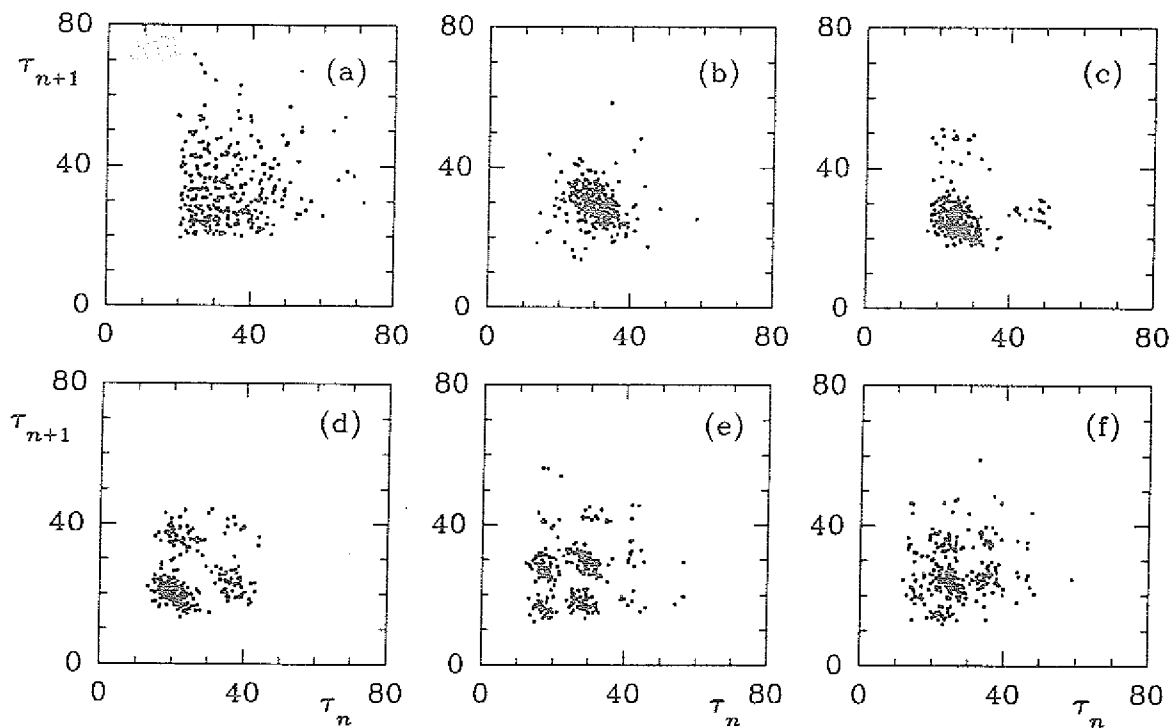


Abb. 3.22: Antwort auf periodische Reize: Simulationen von Next-period-Plots für Spontanintervalle (a), $T = 30$ (b), 25 (c), 20 (d), 15 (e), 12 (f) mit jeweils 300 Schwimmintervallen. Parameter: $\mu = 1$, $a = 0.4$, $b_0 = 0.05$, $c = 0.3$, $\Omega = 30$, $y_s = 6.5$ (a) bzw. 3.5 (b-f) und $y_m = 1$.

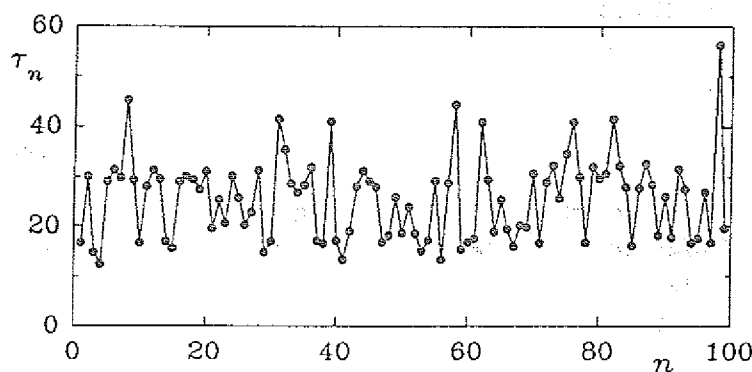


Abb. 3.23: Sequenz aufeinanderfolgender Schwimmintervalle: Aufgetragen sind 100 Intervalle aus der Simulation in Abb. 3.22e.

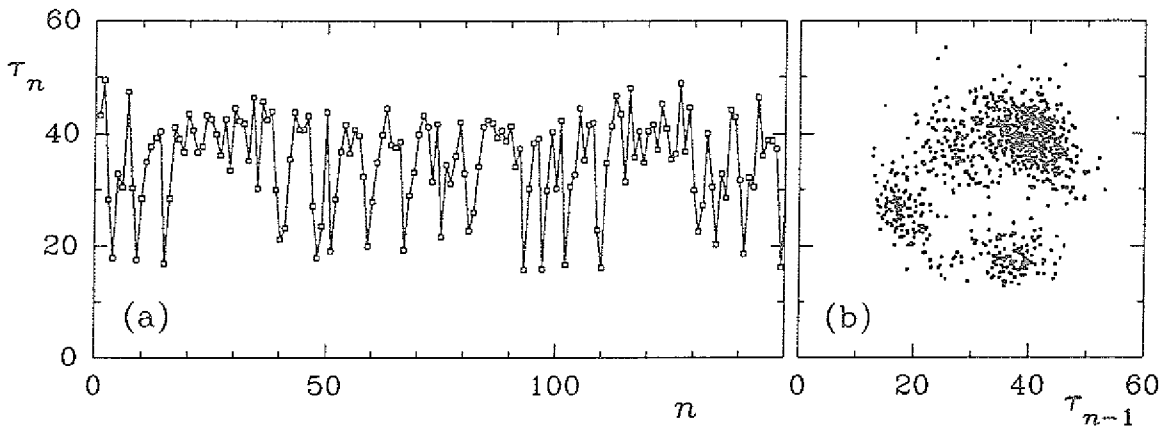


Abb. 3.24: Schwimmintervallsequenz und Next-period-Plot von 1000 Intervallen bei periodischer Stimulierung mit $T = 40$. Parameter wie in Abb. 3.22.

Mode-locking-Zustände mit einer definierten Abfolge von Spikes unterschiedlicher Amplitude. Wegen der großen Fluktuationen können diese Zustände aber auch durch eine geeignete Wahl der Schaltschwelle nicht sichtbar gemacht werden.

Deutliche Korrelationen erhält man hingegen bei Reizperioden, die größer als die mittlere Dauer eines Spontanintervalls sind (Abb. 3.24 für $T = 40$, Verteilung in Abb. 3.25c). Das Maximum der Schwimmintervallverteilung liegt auch hier bei $\tau \approx T$. Zusätzlich treten häufig kürzere Schwimmintervalle auf. Wie der Next-period-Plot zeigt, setzen sich diese aus zwei Anteilen zusammen: Auf eine kurze Schwimmintervall $\tau \approx 18$ folgt mit großer Wahrscheinlichkeit ein mittleres Schwimmintervall $\tau \approx 25$, so daß die Synchronisation mit der periodischen Stimulierung nicht zerstört wird. Daß die Summe der kurzen und mittleren Schwimmintervalle etwas größer als $T = 40$ ist, wird dadurch ausgeglichen, daß der Vorläufer/Nachfolger eines kurzen/mittleren Schwimmintervalls ein Schwimmintervall der Länge $\tau \lesssim T$ ist.

Diese Simulation zeigt die starke Wirkung des periodischen Reizes auf den Oszillator. Experimentelle Daten für einen Vergleich von Simulation und Experiment fehlen bisher. Im Zwei-Zustands-Modell tritt ein ähnlich deutlicher Effekt mit der dort gewählten Stimulierung nicht auf.

Abhängigkeit der Umkehrereignisse von der Phase des periodischen Reizes

Die Abhängigkeit der Wahrscheinlichkeit eines Umkehrereignisses von der Phasenlage des periodischen Reizes ist ein interessanter Punkt, der von Lucia et al. [25] auch experimentell untersucht wurde (vgl. Kap. 1.1.1). Er beleuchtet etwas genauer die Synchronisation zwischen Oszillator und externem Reiz.

Findet zum Zeitpunkt t^* ein Umkehrereignis statt, so ist die zugehörige Phase θ des Reizes⁸

$$\theta(t^*) = \frac{2\pi t^*}{T} \bmod 2\pi. \quad (3.34)$$

⁸Nach Gleichung (3.33) ist $\theta(0) = 0$. Eine Abhängigkeit der Ergebnisse von der Anfangsphase besteht nicht.

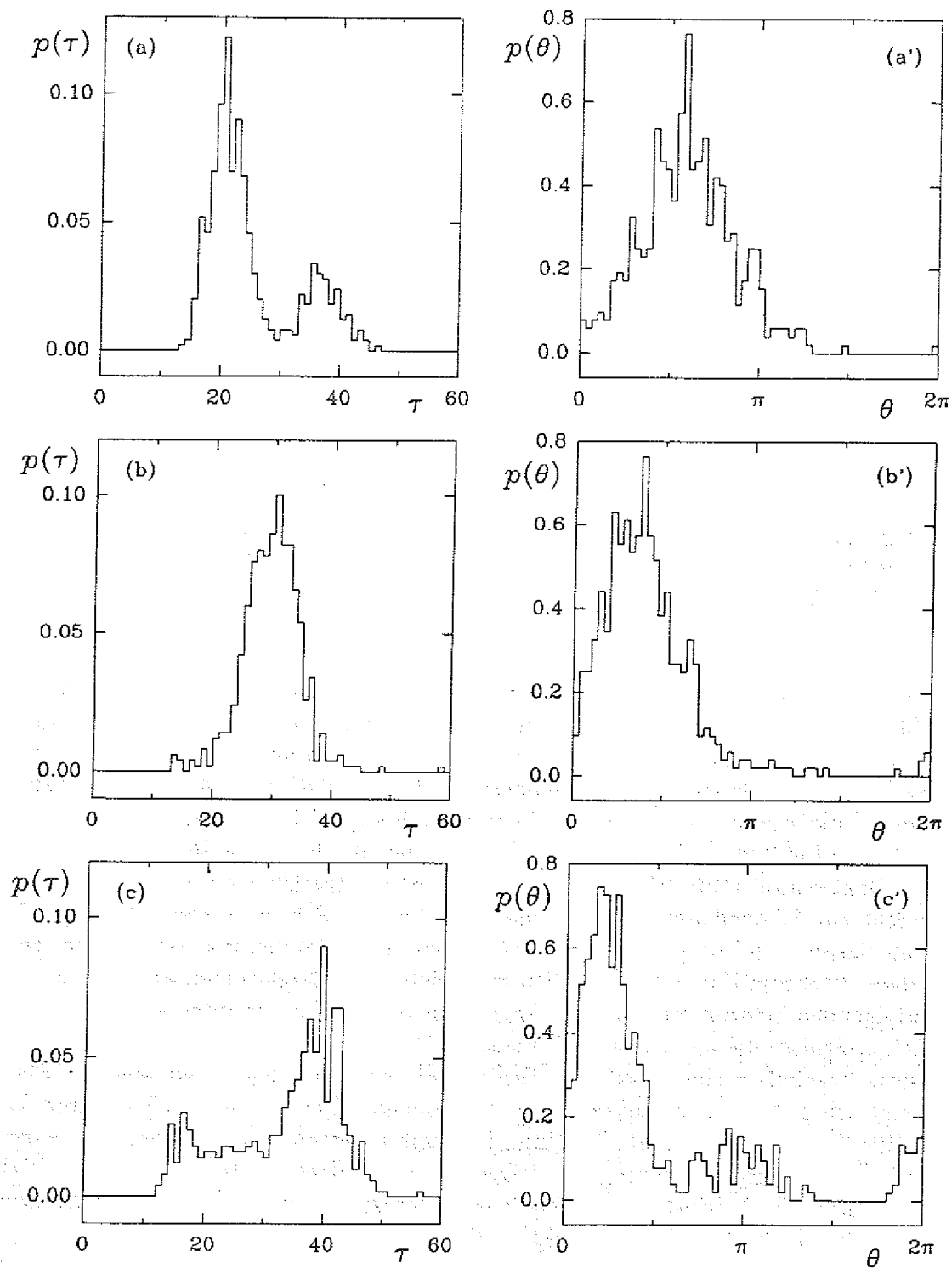


Abb. 3.25: Schwimmintervallverteilungen (linke Spalte) und Verteilungen der Phase des periodischen Reizes zum Zeitpunkt eines Umkehrereignisses (rechte Spalte) für jeweils 500 aufeinanderfolgende Schwimmintervalle. Parameter: $T = 20$ (a), 30 (b), 40 (c), sonst wie in Abb. 3.22. Die Verteilungen sind auf 1 normiert.

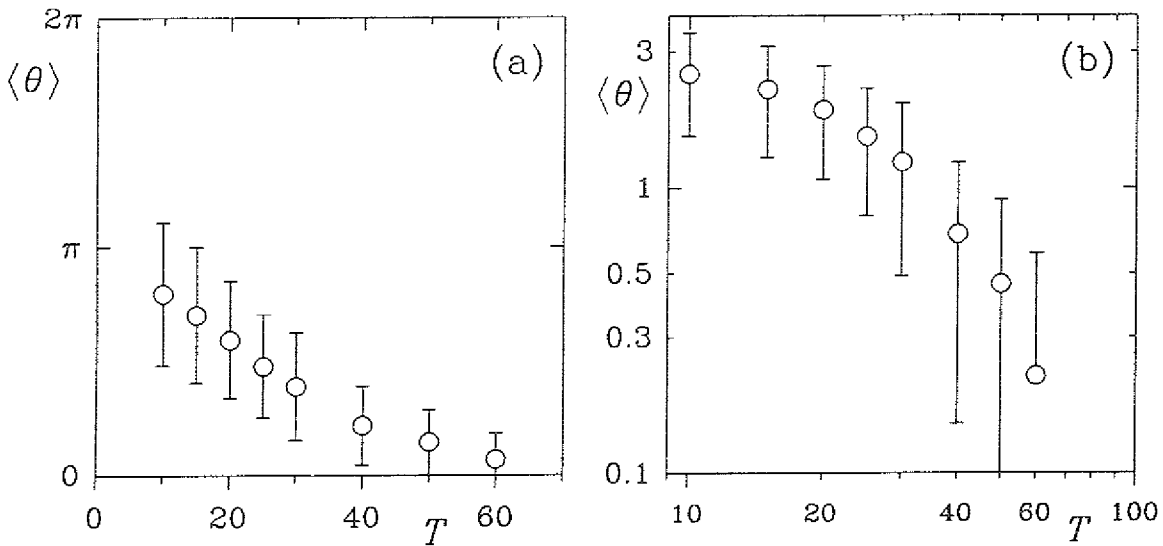


Abb. 3.26: $\langle \theta \rangle$ als Funktion der Reizperiode: Aufgetragen ist $\langle \theta \rangle \pm$ Standardabweichung von jeweils 500 Schwimmintervallen. Für $T = 40, 50$ und 60 wurde nur über das Hauptmaximum der Verteilung gemittelt (vgl. Abb. 3.25c'). Abb. (a) und (b) zeigen dieselben Daten in linearer bzw. doppelt-logarithmischer Skalierung.

In Abb. 3.25 sind Schwimmintervallverteilungen und die zugehörigen Phasenverteilungen für drei Reizfrequenzen gegenübergestellt. In keinem Frequenzbereich kommt es aufgrund der Fluktuationen zu einer vollkommenen Verschmierung der Phase. Mittelwerte der Verteilungen sind, zumindest für hohe Reizfrequenzen, aussagekräftige Größen. Umkehrereignisse treten also bevorzugt bei einer bestimmten Phase der Stimulierung auf und damit bei ganzzahligen Vielfachen der Reizperiode. Dies schlägt sich in den Next-period-Plots Abb. 3.22b–f auch in einer Streckung der einzelnen Flecken senkrecht zur Winkelhalbierenden nieder: Auf kürzere Schwimmintervale folgen bevorzugt längere, und umgekehrt. Bei einer langsamen Stimulierung (Abb. 3.25c) zeigt sich diese Phasenpräferenz in den oben beschriebenen Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen. Abgesehen von den kurzen Intervallen, treten die Umkehrereignisse bei der „richtigen“ Phase auf.

Diese Ergebnisse sind soweit in Übereinstimmung mit den Experimenten. Einen Widerspruch gibt es beim funktionellen Zusammenhang zwischen dem Mittelwert von θ und der Reizperiode T . Abb. 3.25 und, in einem größeren Bereich, Abb. 3.26 zeigen, daß die Phase, bei der bevorzugt Umkehrereignisse auftreten, als Funktion von T abnimmt. Dabei wurde in Abb. 3.26 jeweils nur über das Hauptmaximum der Verteilung gemittelt. Lucia et al. finden als funktionellen Zusammenhang⁹

$$\langle \theta \rangle \sim T^{-1}, \quad (3.35)$$

vgl. Kap. 1.1.1, Abb. 1.7. Die Simulationsergebnisse gehen zwar in die richtige Richtung,

⁹Die Autoren betrachten eigentlich jeweils das Maximum einer Verteilung. Wegen der Form der Verteilungen ändert das aber nichts an der Aussage.

das Verhalten (3.35) findet sich aber nicht wieder. Die logarithmische Auftragung der Daten in Abb. 3.26b zeigt, daß hier kein Potenzgesetz gefittet werden kann.

3.6 Diskussion

Das Oszillatormodell ist eine konkrete, mathematische Formulierung der Oszillatorhypothese von Schimz und Hildebrand zum Schwimmverhalten von Halobakterien. Viele der experimentellen Beobachtungen lassen sich beschreiben, wenn man das Reaktionssystem in einem Parameterbereich betrachtet, in dem es Relaxationsoszillationen zeigt. Das Modell ist dabei aus theoretischer Sicht aus zwei Gründen befriedigender als das Zwei-Zustands-Modell. Erstens stellt es einen *mikroskopischen* Ansatz für die Kopplung zwischen dem sensorischen System (einschließlich der Reizintegration und Adaptation) und dem Geißelmotor dar. Und zweitens gibt es über die Möglichkeiten des Zwei-Zustands-Modells hinaus Erklärungen für die Form der Spontanintervallverteilung, das Auftreten der Refraktärzeit für Repellent-Reize und die Entstehung von Punktmustern bei Zugabe von IBMX.

Bei allen Phänomenen sind Fluktuationen wesentlich für das Verständnis der Dynamik des Systems. Die Eigenschaft, Relaxationsoszillationen zu zeigen, ist vor allen Dingen im Zusammenhang mit den Attractant-Antworten entscheidend. Insbesondere bei periodischen Reizen erhält man in anderen Parameterbereichen zum Teil bessere Ergebnisse. Dies betrifft aber nicht die Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen, sondern die Übereinstimmung der Verteilungsmaxima mit Vielfachen der Reizperiode. Aus Gründen der Einheitlichkeit wurden aber trotzdem alle Simulationsergebnisse, mit Ausnahme der IBMX-Experimente, in *einem* Parameterbereich dargestellt. Wie schon an der entsprechenden Stelle (Kap. 3.5.2) diskutiert, muß man im Rahmen des Oszillatormodells davon ausgehen, daß IBMX mehrere Parameter gleichzeitig verändert. Ob dies in konsistenter Weise, d.h. ohne die Oszillationsfrequenz zu stark zu verändern, tatsächlich möglich ist, wurde nicht überprüft. Es kam vor allem darauf an, zu zeigen, daß das Auftreten einer zunehmenden Zahl von Aussetzern eine mögliche Erklärung für die Entstehung der zeitlichen Muster bei den IBMX-Experimenten ist.

Abgesehen davon, daß es bis jetzt experimentell keine direkten Hinweise auf die Existenz eines biochemischen Oszillators in Halobakterien gibt, ist das Modell in der beschriebenen Form aus zwei Gründen unrealistisch. Der erste ist unkritisch und betrifft die Form der Reaktionsraten. Bei einer Modifikation des Modells in Anlehnung an das Goldbeter-Modell für Ca-Oszillationen [54] (siehe auch Kap. 3.2) zeigen die Oszillationen dieselben qualitativen Merkmale wie bei unserem Ansatz. Biochemisch realistische Sättigungseffekte haben also keinen entscheidenden Einfluß. Die Simulation des Schwimmverhaltens betreffend wurde dies für Spontanintervalle und die Antwort auf periodische Reize getestet, ohne daß Unterschiede zum oben beschriebenen Verhalten auftraten.

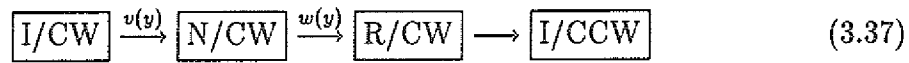
Der zweite Punkt betrifft die Annahme der festen Schwellen y_s und y_m . Schwellenverhalten kann in biochemischen Systemen durch kooperative Effekte realisiert werden. Bei der allosterischen Regulation einer enzymatischen Reaktion können sie zu einer

sigmoiden, schwellenartigen Abhängigkeit der Reaktionsrate von der Modulatorkonzentration führen (siehe z.B. [59]). Ein üblicher Ansatz zur Beschreibung kooperativer Effekte ist der von Hill [60]. Er führt auf Reaktionsraten der Form

$$r^+(s, y) = f(s) \frac{y^n}{K^n + y^n} \quad \text{bzw.} \quad r^-(s, y) = f(s) \frac{K^n}{K^n + y^n}. \quad (3.36)$$

Die erste Gleichung erhält man bei einer allosterischen Aktivierung, die zweite bei einer Hemmung der Reaktion. Dabei bezeichnet s die Substratkonzentration und y die Modulatorkonzentration. Die Raten r sind bei der Modulatorkonzentration $y = K$ halbmaximal.

Nimmt man in Anlehnung an McCain et al. [19] an, daß der Schalter des Geißelmotors in drei Zuständen (I, N, R) vorliegen kann, und fordert weiter, daß Übergänge zwischen den Zuständen allosterisch reguliert sind, kann für den Übergang zwischen den Zuständen CW und CCW (oder umkehrt) folgendes Modell aufgestellt werden:



mit den von der Schaltsubstanz Y abhängigen Übergangswahrscheinlichkeiten

$$v(y) = k_N \frac{y_m^n}{y_m^n + y^n} \quad (3.38\text{-a})$$

$$w(y) = k_R \frac{y^q}{y_s^q + y^q}. \quad (3.38\text{-b})$$

Unmittelbar nach einem Schaltereignis befindet sich der Schalter in einem inaktiven Zustand I. Der Übergang in den non-reversing state N ist durch Y reguliert und erfolgt vorzugsweise bei Konzentrationen $y < y_m$ und der darauf folgende Übergang in den reversing state R vorzugsweise bei Konzentrationen $y > y_s$. Danach passiert instantan das Umschalten der Geißeldrehrichtung, wobei der Schalter in den Zustand I springt. Dieser Ansatz stellt eine realistischere Kopplung zwischen Oszillator und Geißelmotor dar als die Annahme einer festen Schaltschwelle. Da Amplitudenfluktuationen eine bedeutende Rolle im Modell spielen, ist er zudem eine wichtige Erweiterung des bisherigen Ansatzes.

Über diese prinzipiellen Überlegungen hinaus gibt es zwei Simulationsergebnisse, die eine kritische Hinterfragung des Oszillatormodells erfordern. Dies ist zum einen die Abhängigkeit der Reizeffektivität vom Reizezeitpunkt bei einzelnen Attractant-Reizen und zum anderen die Abhängigkeit der Umkehrereignisse von der Phase der Stimulierung bei periodischen Reizen. Beim letzteren Punkt ist zu beachten, daß bei den Experimenten die Phase des Lichtreizes selbst betrachtet wird. Die beobachtete Abhängigkeit $\langle \theta \rangle \sim T^{-1}$ bedeutet eine im Mittel konstante Verzögerung zwischen dem Zeitpunkt, zu dem $\theta = 0$ ist, und dem Auftreten eines Umkehrereignisses. Geht man davon aus, daß die maximale Änderung der Lichtintensität bei $\theta = 0$ der effektive, ein Umkehrereignisse induzierende Repellent-Reiz ist, könnte die konstante Verzögerung auf die Signalverarbeitung zurückgeführt werden. Im Oszillatormodell muß die Abhängigkeit $\langle \theta \rangle(T)$ hingegen als Eigenschaft des Oszillators verstanden werden. Dieses Problem taucht beim Zwei-Zustands-Modell konstruktionsgemäß nicht auf. Dort ist

das Auftreten von Umkehrereignissen direkt mit der Übergangswahrscheinlichkeit von CW nach CCW korreliert und eine konstante Verzögerung zwischen dem Zeitpunkt eines Repellent-Reizes und seiner maximalen Wirkung explizit berücksichtigt. Für eine korrekte Beschreibung der Wirkung periodischer Lichtreize kann daher die Einbeziehung eines mikroskopischen Modells für die Signalverarbeitung (Adaptation, Verrechnung von Reizen) notwendig sein. Eine wichtige Frage wäre zum Beispiel, wie das den Geißelmotor beeinflussende intrazelluläre Signal infolge eines sinusförmigen Lichtreizes aussieht. Was ist der effektive Reiz? Gibt es eine Phasenverschiebung zwischen dem periodischen Reiz und dem intrazellulären Signal? Mögliche Ausgangspunkte für eine modellhafte Beschreibung der Signalverarbeitung sind beispielsweise die von Marwan und Oesterhelt [11], Spudich et al. [36] oder Lucia et al. [25] postulierten Mechanismen.

Eine Erweiterung des Modellansatzes in dieser Richtung könnte auch wichtig zum Verständnis der teilweise beobachteten Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen bei periodischen Reizen sein. Ein Indiz, daß die Signalverarbeitung in diesem Zusammenhang eine bedeutende Rolle spielen könnte, ist die empfindliche Abhängigkeit des Verhaltens der Bakterien von den Reizbedingungen (vgl. Kap. 1.1.1, [23]). Eine alternative Idee wäre, die verschiedenen, zeitlichen Strukturen im Schwimmverhalten auf Zustände des periodisch getriebenen Oszillators zurückzuführen, die sich deterministisch gesehen qualitativ unterscheiden; z.B. verschiedene Mode-locking-Zustände oder chaotische Zustände. Wegen der geringen Größe des Systems *Halobacterium* erscheint die Erweiterung des Modell durch Einbeziehung der Signalverarbeitung im Moment jedoch sinnvoller als eine systematische Untersuchung des Bifurkationsverhaltens des Oszillators und die Erklärung der beobachteten Strukturen durch deterministische Effekte.

Kapitel 4

Beschreibung einiger Teilaspekte

In diesem Kapitel sollen Ansätze zur Behandlung einiger Teilaspekte des Schwimmverhaltens der Bakterien bzw. Teilaspekte der bisher beschriebenen Modelle vorgestellt werden. Die in den ersten beiden Abschnitten behandelten Punkte sind eventuell nützlich zu einem tiefergehenden Verständnis der bei den Simulationen beobachteten Effekte. Im dritten Abschnitt wird ein zweiter, mikroskopischer Ansatz zur Beschreibung der Spontanintervallverteilung vorgestellt.

4.1 Grenzzzyklus-Oszillationen: Beschränkung auf Phasenfluktuationen

Ein Grenzzzyklus ist als Orbit asymptotisch stabil, d.h. alle Trajektorien, die in der Nähe des Grenzzzyklus starten, nähern sich ihm und sind schließlich periodisch mit derselben Periode. Er besteht aber nicht aus nur einer asymptotisch stabilen Lösung¹, gegen die alle anderen Lösungen für $t \rightarrow \infty$ konvergieren. Grenzzyklen bestehen vielmehr aus einer Familie periodischer Lösungen, die sich in ihrer Phase unterscheiden. Wegen der orbitalen Stabilität werden Amplitudenfluktuationen senkrecht zum Grenzzzyklus gedämpft, Phasenfluktuationen in Richtung des Grenzzzyklus hingegen nicht. Ein zunächst an einer Stelle des Grenzzzyklus lokalisiertes Ensemble gleichartiger Systeme verschmiert deshalb im Laufe der Zeit über den ganzen Grenzzzyklus und bleibt nur senkrecht dazu lokalisiert [61–63]. Im Gegensatz zum deterministischen Fall beobachtet man keine synchrone Bewegung der Ensemblemitglieder. Die Breite der Verteilung des Ensembles in Richtung des Grenzzzyklus nimmt dabei wie bei einem Diffusionsprozeß proportional $\sqrt{t}$ zu. Man spricht daher auch von einer „Phasendiffusion“.

Beim Oszillatormodell für das Schwimmverhalten von Halobakterien spielen Amplitudenfluktuationen eine bedeutende Rolle. Es ist aber eine interessante Frage, ob einige Effekte auch alleine aufgrund von Phasenfluktuationen verstanden werden können. Ein Ansatz, wie man hier vielleicht weiterkommt, soll in diesem Abschnitt kurz dargestellt werden.

¹Die Lösung $u(t)$ eines Differentialgleichungssystems heißt *asymptotisch stabil*, falls für alle Lösungen $v(t)$, die in einer geeigneten Umgebung von $u(t)$ starten, die Bedingung $|u(t) - v(t)| \rightarrow 0$ für $t \rightarrow \infty$ erfüllt ist.

4.1.1 Die Fokker-Planck-Gleichung

Ein System, das oszillatorische Lösungen besitzt, muß aus topologischen Gründen mindestens zweidimensional sein. Beschränkt man sich jedoch auf die Bewegung auf einem Grenzzzyklus unter Vernachlässigung von Amplitudenfluktuationen, ist das Problem effektiv eindimensional und periodisch in der Ortskoordinate. Die Länge eines Schwimmintervalls entspricht dann der Zeit, die benötigt wird, um den Grenzzzyklus einmal vollständig zu umrunden.

Als Ansatz zur Beschreibung des Systems unter dem Einfluß von Rauschen wählen wir die Langevin-Gleichung

$$\dot{x} = f(x) + \xi(t), \quad f(x) = f(x + L), \quad (4.1)$$

wobei x z.B. die Bogenlänge des Grenzzzyklus oder eine Winkelkoordinate, L die Gesamtlänge des Grenzzzyklus und $\xi(t)$ eine additive Zufallskraft ist, deren statistische Eigenschaften noch spezifiziert werden müssen. Der Einfachheit halber sei $\xi(t)$ ein Gaußsches weißes Rauschen, charakterisiert durch

$$\langle \xi(t) \rangle = 0, \quad \langle \xi(t) \xi(t') \rangle = D \delta(t - t'). \quad (4.2)$$

Die zeitliche Entwicklung der Dichtefunktion $p(x, t)$ eines Ensembles, das der Gleichung (4.1) gehorcht, wird dann durch die Fokker-Planck-Gleichung

$$\frac{\partial p(x, t)}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} f(x) p(x, t) + \frac{D}{2} \frac{\partial^2}{\partial x^2} p(x, t) \quad (4.3)$$

mit der Anfangsbedingung

$$p(x, 0) = \delta(x - x_0) \quad (4.4)$$

beschrieben [64].

Nach der Angabe von Randbedingungen kann diese eindimensionale Fokker-Planck-Gleichung durch Entwicklung nach Eigenfunktionen des Fokker-Planck-Operators

$$\hat{L}_{FP} = \frac{D}{2} \frac{\partial^2}{\partial x^2} - \frac{\partial}{\partial x} f(x) \quad (4.5)$$

im Prinzip gelöst werden ([64], Kap. 5). Der Separationsansatz für $p(x, t)$

$$p(x, t) = \varphi(x) e^{-\lambda t} \quad (4.6)$$

führt auf die Eigenwertgleichung

$$\hat{L}_{FP} \varphi(x) = -\lambda \varphi(x). \quad (4.7)$$

Hierbei sind λ und $\varphi(x)$ die Eigenwerte und Eigenfunktionen von $\hat{L}_{FP}$ zu den gewählten Randbedingungen. Der Fokker-Planck-Operator (4.5) ist i. allg. nicht hermitesch. Unter Verwendung des Potentials

$$\Phi(x) = -\frac{2}{D} \int f(x) dx + \text{const.} \quad (4.8)$$

kann er jedoch auf den hermiteschen Operator

$$\hat{L} = e^{\Phi(x)/2} \hat{L}_{\text{FP}} e^{-\Phi(x)/2} \quad (4.9)$$

transformiert werden.

Ist $\varphi_n(x)$ eine Eigenfunktion des Fokker-Planck-Operators $\hat{L}_{\text{FP}}$ mit dem Eigenwert λ_n , so ist

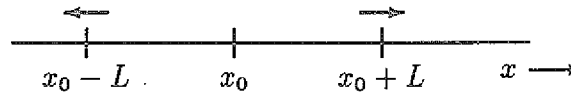
$$\psi_n(x) = e^{\Phi(x)/2} \varphi_n(x) \quad (4.10)$$

Eigenfunktion des Operators $\hat{L}$ zu demselben Eigenwert λ_n . Die Vollständigkeit² und Orthonormalität der Eigenfunktionen eines hermiteschen Operators ausnutzend, erhält man dann als Lösung der Fokker-Planck-Gleichung (4.3)

$$\begin{aligned} p(x, t) &= e^{\Phi(x_0)} \sum_n \varphi_n(x) \varphi_n(x_0) e^{-\lambda_n t} \\ &= e^{\Phi(x_0)/2 - \Phi(x)/2} \sum_n \psi_n(x) \psi_n(x_0) e^{-\lambda_n t}. \end{aligned} \quad (4.11)$$

4.1.2 Die First-passage-time-Verteilung

Startet das System zur Zeit $t = 0$ an der Stelle $x(0) = x_0$, so ist im Rahmen dieses Ansatzes eine Schwimmintervallverteilung gleich der Verteilung der Zeitpunkte, zu denen die Zufallsvariable $x(t)$ einen Rand des Intervalls $[x_0 - L, x_0 + L]$ erstmalig erreicht.



Wie in den anderen Kapiteln werde die gesuchte Wahrscheinlichkeitsdichte wieder mit ρ bezeichnet. Zu ihrer Berechnung muß die Fokker-Planck-Gleichung (4.3), in Analogie zu dem fpt-Problem beim Zwei-Zustands-Modell, mit *absorbierenden* Randbedingungen gelöst werden, d.h. [64]

$$p(x_0 - L, t) = p(x_0 + L, t) = 0. \quad (4.12)$$

Falls das Potential $\Phi(x)$ in dem betrachteten Intervall endlich ist, existiert für diese Randbedingungen keine stationäre Lösung der Fokker-Planck-Gleichung und alle Eigenwerte λ_n des Fokker-Planck-Operators sind positiv [64].

Die Wahrscheinlichkeit $W(x_0, t)$, daß eine Realisation, die bei $x = x_0$ startet, zum Zeitpunkt t einen der Ränder *noch nicht* erreicht hat, ist gleich

$$W(x_0, t) = \int_{x_0 - L}^{x_0 + L} p(x, t) dx. \quad (4.13)$$

²Dies muß strenggenommen in jedem Einzelfall geprüft werden.

Die Wahrscheinlichkeit, daß die Realisation einen der Ränder in dem kleinen Zeitintervall $[t, t + \Delta t]$ erreicht, ist daher

$$\begin{aligned}\rho(x_0, t) \Delta t &= [1 - W(x_0, t + \Delta t)] - [1 - W(x_0, t)] \\ &= W(x_0, t) - W(x_0, t + \Delta t),\end{aligned}\quad (4.14)$$

Im Limes $\Delta t \rightarrow 0$ erhalten wir damit unter Verwendung von (4.13) als First-passage-time-Verteilung

$$\rho(x_0, t) = -\frac{\partial}{\partial t} \int_{x_0-L}^{x_0+L} p(x, t) dx. \quad (4.15)$$

Die Lösung (4.11) der Fokker-Planck-Gleichung in (4.15) eingesetzt, liefert

$$\rho(x_0, t) = \sum_n c_n(x_0) \lambda_n e^{-\lambda_n t} \quad \text{mit} \quad c_n(x_0) = \int_{x_0-L}^{x_0+L} e^{\Phi(x_0)} \varphi_n(x) \varphi_n(x_0) dx. \quad (4.16)$$

Die fpt-Verteilung $\rho(x_0, t)$ verläuft also asymptotisch exponentiell, bestimmt durch den kleinsten Eigenwert λ_n . Damit ist allerdings noch nicht gesagt, daß ein großer Teil der Verteilung durch eine einzige Exponentialfunktion beschrieben werden kann.

4.1.3 Beispiel

Als einfaches Beispiel soll die fpt-Verteilung (4.16) für den Fall eines konstanten Driftterms $f(x)$ berechnet werden. In Hinblick auf die relaxationsartigen Oszillationen, die wir beim Oszillatormodell betrachtet haben, ist diese Annahme nicht so schlecht, wie es auf den ersten Blick scheint. Während eines Großteils der Oszillationsperiode ist $\dot{x} \approx a$ und $\dot{y} \approx 0$ (Abb. 3.3). Das System bewegt sich also während eines wesentlichen Teils eines Schwimmintervalls mit etwa konstanter Geschwindigkeit entlang des Grenzzykus.

Wir betrachten im folgenden einen Prozeß mit absorbierenden Rändern bei $x = \pm L$, der zur Zeit $t = 0$ im Punkt $x_0 = 0$ startet, und dessen Driftterm

$$f(x) = w = \text{const.} \quad (4.17)$$

ist. Mit dem Fokker-Planck-Operator

$$\hat{L}_{\text{FP}} = \frac{D}{2} \partial_{xx} - w \partial_x \quad (4.18)$$

und dem Potential des Prozesses

$$\Phi(x) = -\frac{2w}{D} x + \text{const.} \quad (4.19)$$

erhalten wir als transformierten, hermiteschen Operator

$$\hat{L} = e^{-\frac{w}{D}x} \left[\frac{D}{2} \partial_{xx} - w \partial_x \right] e^{\frac{w}{D}x} = \frac{D}{2} \left[\partial_{xx} - \left(\frac{w}{D} \right)^2 \right]. \quad (4.20)$$

Dieser Operator vertauscht mit dem Symmetrioperator $\hat{\sigma}$ ($\hat{\sigma}\psi(x) = \psi(-x)$) und hat daher symmetrische und antisymmetrische Eigenfunktionen $\psi^s(x)$ und $\psi^a(x)$. Hier müssen jedoch nur die symmetrischen Eigenfunktionen berücksichtigt werden, da wegen $\psi^a(x_0=0) = 0$ die antisymmetrischen Funktionen keinen Beitrag zur Lösung (4.11) der Fokker-Planck-Gleichung liefern.

Die symmetrischen Lösungen des Eigenwertproblems $\hat{L}\psi = -\lambda\psi$ (der Index s ist wieder weggelassen) sind

$$\psi(x) = A \cos kx \quad (4.21)$$

mit Eigenwerten

$$\lambda = \frac{w^2}{2D} + \frac{D}{2}k^2 > 0. \quad (4.22)$$

Dabei ist k so zu wählen, daß die Randbedingungen $\varphi(L) = \varphi(-L) = 0$ für die Eigenfunktionen

$$\varphi(x) = e^{\frac{w}{D}x} \psi(x) \quad (4.23)$$

des Fokker-Planck-Operators $\hat{L}_{FP}$ erfüllt sind, also

$$k = \left(n + \frac{1}{2}\right) \frac{\pi}{L}, \quad n = 0, \pm 1, \pm 2, \dots \quad (4.24)$$

Die Eigenfunktionen und zugehörigen Eigenwerte von $\hat{L}$ sind damit³

$$\begin{aligned} \psi_n(x) &= \frac{1}{\sqrt{L}} \cos \left[\left(n + \frac{1}{2}\right) \frac{\pi}{L} x \right], \\ \lambda_n &= \frac{w^2}{2D} + \frac{D}{2} \left[\left(n + \frac{1}{2}\right) \frac{\pi}{L} \right]^2, \quad n = 0, 1, 2, \dots, \end{aligned} \quad (4.25)$$

und als Lösung der Fokker-Planck-Gleichung erhalten wir

$$p(x, t) = \frac{1}{L} e^{\frac{w}{D}x} \sum_{n=0}^{\infty} \cos \left[\left(n + \frac{1}{2}\right) \frac{\pi}{L} x \right] e^{-\lambda_n t}. \quad (4.26)$$

Nach Ausführung der Integration in (4.15) ergibt sich als gesuchte First-passage-time-Verteilung

$$\rho(t) = \frac{\pi D}{L^2} \cosh \left(\frac{wL}{D} \right) \sum_{n=0}^{\infty} (-1)^n \left(n + \frac{1}{2}\right) e^{-\lambda_n t}. \quad (4.27)$$

Der Verlauf dieser Verteilung ist in Abb. 4.1 zusammen mit der Exponentialfunktion, die man bei alleiniger Berücksichtigung des Terms $n = 0$ erhält, gezeigt. $\rho(t)$ fällt über einen großen Bereich exponentiell ab und stimmt so ganz gut mit den experimentellen Spontanintervallverteilungen überein. Eine systematische Verfolgung dieses Ansatzes könnte also lohnend sein, z.B. mit Blick auf die Frage, ob es Bedingungen gibt, unter denen die Effektivität eines Reizes unabhängig davon ist, an welcher Stelle des Grenzyklus die Stimulation passiert.

³Wegen $\lambda_{-n} = \lambda_{n-1}$ und $\psi_{-n}(x) = \psi_{n-1}(x)$ brauchen nur positive n berücksichtigt werden.

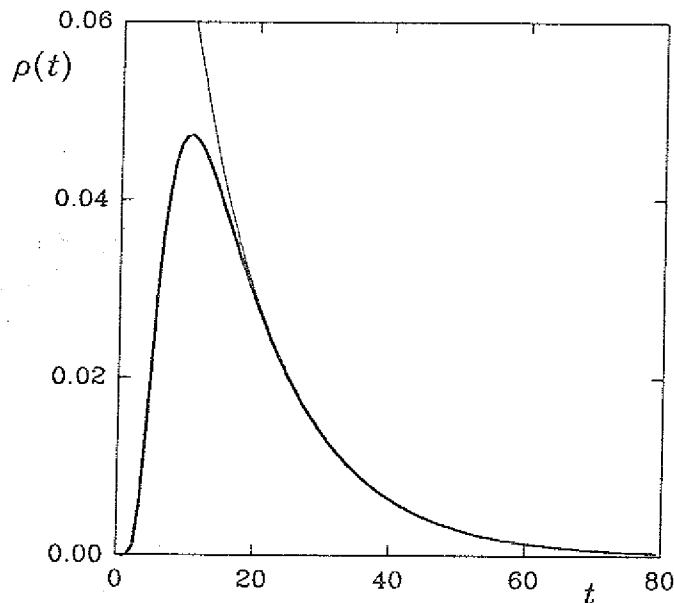


Abb. 4.1: Verlauf von $\rho(t)$ Gleichung (4.27) für $w = 0.3$, $D = 1$ und $L = 2\pi$. Summiert wurde bis $n = 100$ (dicke Kurve). Die Exponentialfunktion (dünne Kurve) erhält man bei alleiniger Berücksichtigung des Summanden $n = 0$

4.2 Periodische Reize

In diesem Abschnitt wird an einem einfachen Beispiel erläutert, wie Verteilungen aufeinanderfolgender Schwimmintervalle bei periodischen Reizen im Prinzip berechnet werden können. In Analogie zum Zwei-Zustands-Modell soll ein Sprungprozeß mit einer periodisch modulierten Übergangswahrscheinlichkeit untersucht werden⁴. Wir betrachten Sprünge zwischen zwei Zuständen X_1 und X_2 ,

$$X_1 \xrightleftharpoons{f^\phi(t)} X_2, \quad (4.28)$$

mit der Übergangswahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit

$$f^\phi(t) = k + A \sin(\Omega t + \phi), \quad (4.29)$$

die für beide Richtungen gleich sein soll. Hierbei ist Ω die (Kreis)frequenz der Modulation und ϕ eine fest vorgegebene Phase. Die Lösung des First-passage-time-Problems für den Übergang von X_1 nach X_2 (oder umgekehrt) liefert dann eine fpt-Verteilung $\rho^\phi(t)$, die explizit von der Anfangsphase ϕ abhängt.

⁴Ein weiteres Beispiel findet man in [65]. Dort wird die Verteilung von Übergangszeiten zwischen den beiden Minima eines periodisch modulierten Doppelmuldenpotentials berechnet.

Nach Kap. 2.1.1 ist

$$\begin{aligned}\rho^\phi(t) &= f^\phi(t) \exp \left\{ - \int_0^t f^\phi(t') dt' \right\} \\ &= [k + A \sin(\Omega t + \phi)] \exp \left\{ -kt + \frac{A}{\Omega} [\cos(\Omega t + \phi) - \cos \phi] \right\}. \quad (4.30)\end{aligned}$$

$\rho^\phi(t)$ ist die Verteilung von Schwimmintervallen⁵, die *alle bei derselben Phase ϕ beginnen*. Betrachtet man jedoch direkt aufeinander folgende Schwimmintervalle, ist die Phase der Modulation zu Beginn eines jeden Schwimmintervalls, $\theta = (\Omega t^* + \phi) \bmod 2\pi$, eine Zufallsvariable, bestimmt durch den Zeitpunkt t^* eines Umkehrereignisses. Dazu äquivalent ist die Betrachtung von Schwimmintervallen, die alle zum Zeitpunkt $t = 0$, aber mit einer *zufälligen Phase ϕ* beginnen, die wie θ verteilt ist. Die gesuchte Verteilung aufeinanderfolgender Intervalle $\rho(t)$ erhält man dann durch Mittelung von $\rho^\phi(t)$ über ϕ .

Sei $w(\phi)$ die Verteilung von θ , d.h. $w(\phi)\Delta\phi$ sei die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Umkehrereignisses, falls $\phi \leq \theta \leq \phi + \Delta\phi$ ist. Damit ist

$$\rho(t) = \langle \rho^\phi(t) \rangle = \int_0^{2\pi} w(\phi) \rho^\phi(t) d\phi. \quad (4.31)$$

Für den chemischen Oszillator, der zur Formulierung des Oszillatormodells verwendet wurde, sind Beispiele für Phasenverteilungen $w(\phi)$ in Abb. 3.25 gezeigt.

Für den Prozeß (4.28) läßt sich die Verteilung $w(\phi)$ direkt angeben. Da der Prozeß nur aus einem einzigen Übergang besteht und die Übergangswahrscheinlichkeit nur in der Kombination $\theta = \Omega t + \phi$ von t abhängt, ist die Wahrscheinlichkeit, daß der Übergang erfolgt, falls $\theta' \leq \theta \leq \theta' + \Delta\theta'$ ist, proportional $k + A \sin \theta'$. Nach Normierung und Umbenennung der Variablen erhalten wir damit

$$w(\phi) = \frac{1}{2\pi} \left(1 + \frac{A}{k} \sin \phi \right). \quad (4.32)$$

Die über ϕ gemittelte fpt-Verteilung $\rho(t) = \int_0^{2\pi} d\phi w(\phi) \rho^\phi(t)$ kann leider nur numerisch berechnet werden. Abb. 4.2 zeigt Beispiele für zwei Modulationsfrequenzen Ω . Die Exponentialverteilung, die man ohne periodische Modulation erhielte, wird zu einer Verteilung mit mehreren Maxima, deren Zahl mit zunehmender Modulationsfrequenz zunimmt. An diesem Beispiel kann auch gezeigt werden, daß dabei die Mittelung über die richtige Verteilung $w(\phi)$ entscheidend ist. Die Maxima verschwinden, falls man eine Gleichverteilung für ϕ annimmt (gepunktete Kurven in Abb. 4.2a und b). Unter der Voraussetzung, daß sich dieses Ergebnis auf die Experimente übertragen läßt, bedeutet es, daß die Beobachtung aufeinanderfolgender Schwimmintervalle wichtig ist. Die Messung einzelner Schwimmintervalle bei zufällig ausgewählter, gleichverteilter Phase des periodischen Reizes führt nicht auf mehrgipflige Verteilungen.

⁵Der Einfachheit halber werden auch in diesem Abschnitt dieselben Bezeichnungen wie in den vorangegangenen Kapiteln verwendet, obwohl das hier behandelte Beispiel kein Modell für das Schwimmverhalten der Bakterien ist.

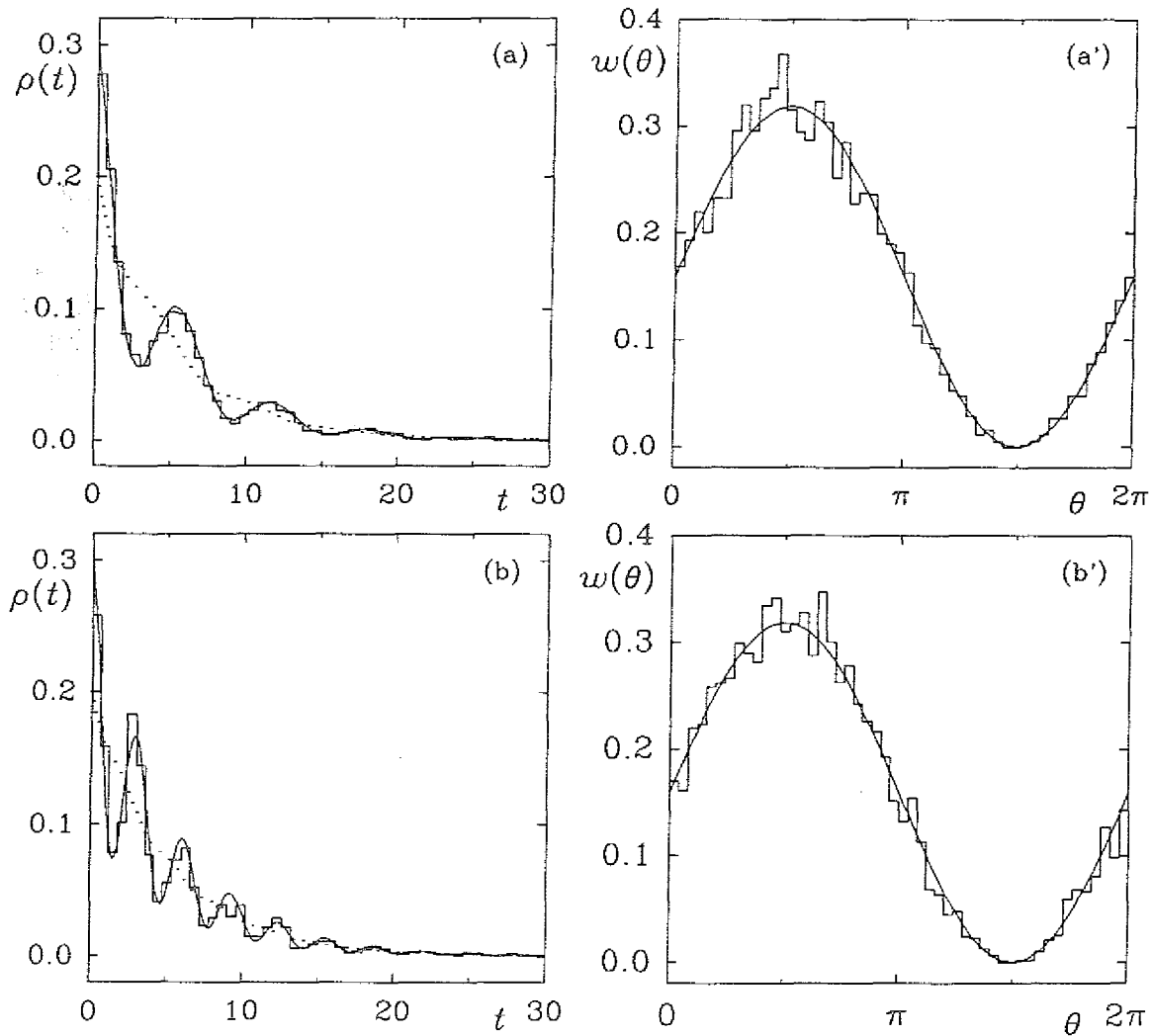


Abb. 4.2: fpt-Verteilung $\rho(t) = \langle \rho^\phi(t) \rangle$ und Phasenverteilung $w(\theta)$ für $k = A = 0.2$ und $\Omega = 1$ (a), 2 (b). Die Histogramme sind das Ergebnis einer Simulation von 5000 Übergängen, simuliert mit festem Zeitschritt $\Delta t = 0.1$ und Anfangsphase $\phi(0) = 0$ (Das Ergebnis ist davon unabhängig, falls über genügend Perioden der Modulation gemittelt wird!). Die gepunkteten Linien erhält man bei Mittelung von $\rho^\phi(t)$ über eine gleichverteilte Phase ϕ , $w(\phi) = 1/2\pi$.

4.3 Die Zustandskette

Im folgenden soll noch ein zweiter, mikroskopischer Ansatz zur Beschreibung des Spontanverhaltens der Bakterien vorgestellt werden. In Anlehnung an den von McCain et al. postulierten Mechanismus [19] wird angenommen, daß der Geißelmotor oder eine mit ihm verknüpfte, funktionelle Einheit, z.B. der Motorschalter, zwischen zwei Umkehrereignissen eine definierte Folge von Zuständen durchlaufen muß. Die Anzahl der Schritte soll dabei zunächst offengelassen werden. Als Ansatz wählen wir die Zustandskette

$$X_0 \xrightarrow{k_1} X_1 \xrightarrow{k_2} \dots \xrightarrow{k_{n-1}} X_{n-1} \xrightarrow{k_n} X_n \quad (4.33)$$

mit konstanten Übergangswahrscheinlichkeiten pro Zeiteinheit k_i . Hierbei könnten der Anfangs- und der Endzustand z.B. mit den Zuständen CW und CCW oder mit einem inaktiven (I) und dem aktiven Zustand (R) des Geißelmotors identifiziert werden. Die einzelnen Übergänge könnten Konformationsänderungen oder Ligandenbindungsschritten entsprechen, wobei durch entsprechende Wahl der Übergangswahrscheinlichkeiten auch kooperative Effekte berücksichtigt werden können. Es wird nur vorausgesetzt, daß zwischen zwei Umkehrereignissen immer alle X_i sequentiell durchlaufen werden und die zeitliche Entwicklung des Systems durch einen Markoffprozeß beschrieben wird.

4.3.1 Die First-passage-time-Verteilung

Rücksprünge sollen in dem Modell (4.33) nicht auftreten. Die fpt-Verteilung $\rho_\tau(t)$ für den Übergang von X_0 nach X_n ist deswegen gleich der Verteilung der Summe von n Zufallsvariablen $\tau_1, \dots, \tau_n$, wobei mit τ_i die Dauer bezeichnet ist, die das System im Zustand X_{i-1} verweilt, bevor der Sprung nach X_i erfolgt⁶. Da der Markoffannahme gemäß die τ_i unabhängig voneinander sind, ist die Verteilung der Summe zweier τ_i gleich der Faltung ihrer Wahrscheinlichkeitsverteilungen $\rho_{\tau_i}(t)$,

$$\rho_{\tau_1+\tau_2}(t) = \rho_{\tau_2} * \rho_{\tau_1}(t) = \int_0^t \rho_{\tau_2}(t-t') \rho_{\tau_1}(t') dt'. \quad (4.34)$$

Dies läßt sich auf die Summe von n Zufallsvariablen verallgemeinern, und man erhält als Ansatz für die gesuchte fpt-Verteilung (der Index τ wird der Übersichtlichkeit halber im folgenden wieder weggelassen)

$$\begin{aligned} \rho(t) &= \rho_n * \rho_{n-1} * \dots * \rho_1(t) \\ &= \int_0^t dt_{n-1} \int_0^{t_{n-1}} dt_{n-2} \dots \int_0^{t_2} dt_1 \rho_n(t-t_{n-1}) \dots \rho_2(t_2-t_1) \rho_1(t_1). \end{aligned} \quad (4.35)$$

⁶Geht man zur Berechnung der fpt-Verteilung von der Master-Gleichung für den Prozeß (4.33) aus, können auch Rücksprünge berücksichtigt werden. Dabei muß ein lineares Differentialgleichungssystem der Form $\dot{p}_i = \sum_{j=0}^{n-1} A_{ij} p_j$ mit konstanten Koeffizienten A_{ij} gelöst werden. Man kann dann zeigen, daß die fpt-Verteilung bis auf einen Normierungsfaktor nur von den Eigenwerten der Koeffizientenmatrix (A_{ij}) abhängt, die bei Vernachlässigung von Rücksprüngen mit den Übergangswahrscheinlichkeiten k_i identisch sind [66]. Die Annahme, daß keine Rücksprünge auftreten, bedeutet also in Hinblick auf die fpt-Verteilung keine Einschränkung der Variabilität des Modells.

Verhalten von $\rho(t)$ für kleine Zeiten

Bevor $\rho(t)$ für den Prozeß (4.33) berechnet wird, soll das Verhalten für kleine t untersucht werden. Dazu wird $\rho(t)$ um $t = 0$ in eine Taylorreihe entwickelt. Die Differentiation eines Faltungsintegrals $f * g(t) = \int_0^t f(t-t')g(t')dt'$ liefert

$$\frac{d}{dt}f * g(t) = f(0)g(t) + \int_0^t \frac{\partial}{\partial t}f(t-t')g(t')dt'. \quad (4.36)$$

Ist $f(0) = 0$ oder $g(0) = 0$, verschwindet neben $f * g(t)$ auch die Ableitung an der Stelle $t = 0$. Für die $(n-1)$ -fache Faltung (4.35) ist daher der erste nicht verschwindende Term in der Taylorentwicklung von der Ordnung t^{n-1} , falls $\rho_j(0) \neq 0$, $j = 1, \dots, n$, ist. Es gilt

$$\rho(t) = \rho_1(0) \cdots \rho_n(0) \frac{t^{n-1}}{(n-1)!} + \mathcal{O}(t^n). \quad (4.37)$$

Das Auftreten kleiner First-passage-Zeiten ist also umso unwahrscheinlicher je größer n ist.

Berechnung von $\rho(t)$ für die Zustandskette

Nach Voraussetzung sind die Übergangswahrscheinlichkeiten k_j zeitlich konstant. Die Verweildauer in einem Zustand ist daher eine exponentiell verteilte Zufallsvariable mit der Dichte

$$\rho_j(t) = k_j e^{-k_j t}, \quad j = 1, \dots, n \quad (4.38)$$

(vgl. Anhang C). Das Integral (4.35) kann dann mit Hilfe des Faltungssatzes für die Laplace-Transformation gelöst werden [42].

Die Laplace-Transformation ist eine umkehrbare Integraltransformation, die für eine Funktion $f(t)$ durch

$$\mathcal{L}[f(t), s] = \tilde{f}(s) = \int_0^\infty f(t) e^{-st} dt \quad (4.39)$$

definiert ist. Für eine Funktion $\tilde{f}(s)$ der Ordnung $\mathcal{O}(s^{-n})$, $n > 1$, die für $\operatorname{Re} s \geq c$ holomorph ist, wird die Rücktransformation durch

$$\mathcal{L}^{-1}[\tilde{f}(s), t] = f(t) = \frac{1}{2\pi i} \int_{c-i\infty}^{c+i\infty} \tilde{f}(s) e^{st} ds \quad (4.40)$$

geleistet. Die Konstante $c \in \mathbb{R}$ ist also so zu wählen, daß der Integrationsweg rechts aller Pole von $\tilde{f}(s)$ in der komplexen Ebene verläuft.

Einer Faltung $f * g(t)$ im Urbildbereich entspricht im Bildbereich das Produkt der Laplace-Transformierten von f und g , d.h.

$$\mathcal{L}[f * g(t), s] = \tilde{f}(s) \cdot \tilde{g}(s). \quad (4.41)$$

Die wiederholte Anwendung dieses Satzes auf $\rho(t)$ in Gleichung (4.35) führt dann auf

$$\tilde{\rho}(s) = \prod_{j=1}^n \tilde{\rho}_j(s), \quad (4.42)$$

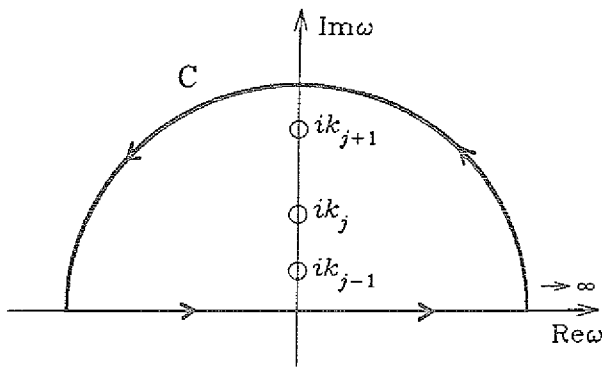


Abb. 4.3: Integrationsweg in der komplexen Ebene zur Berechnung des Integrals (4.45). Die Polstellen von $I(\omega)$ liegen auf der imaginären Achse.

und nach der Transformation der Exponentialverteilungen (4.38), $\tilde{\rho}_j(s) = k_j/(k_j + s)$, erhalten wir als Laplace-Transformierte von $\rho(t)$

$$\tilde{\rho}(s) = \prod_{j=1}^n \frac{k_j}{k_j + s}. \quad (4.43)$$

$\tilde{\rho}(s)$ hat nur in der linken komplexen Halbebene Polstellen. Als Konstante c kann in der Rücktransformation daher $c = 0$ gewählt werden. Nach der Substitution $s = i\omega$ ergibt sich als Rücktransformation das Fourier-Integral

$$\rho(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \prod_{j=1}^n \frac{k_j}{k_j + i\omega} e^{i\omega t} d\omega. \quad (4.44)$$

Die Polstellen des Integranden, $I(\omega) = \prod_{j=1}^n k_j/(k_j + i\omega)e^{i\omega t}$, liegen hier alle in der oberen Halbebene bei $\omega = ik_j$.

Das Integral (4.44) kann mit Hilfe des Residuen-Satzes berechnet werden [42]. Dazu wird der Integrationsweg entlang der reellen Achse durch einen unendlich fernen Halbkreis in der oberen Halbebene zu einem geschlossenen Integrationsweg C ergänzt (Abb. 4.3). Für die Integration entlang C gilt dann

$$\oint_C I(\omega) d\omega = 2\pi i \sum_{l=1}^n \text{Res}[I(\omega), \omega = ik_l], \quad (4.45)$$

wobei $\text{Res}[I(\omega), \omega = ik_l]$ das Residuum von $I(\omega)$ an der Stelle $\omega = ik_l$ bezeichnet. Da $\prod_{j=1}^n k_j/(k_j + i\omega)$ für $|\omega| > \max |ik_j|$ beschränkt ist und hier nur Zeiten $t > 0$ interessant sind, liefert die Integration über den Halbkreis keinen Beitrag zum Integral (4.45) (Lemma von Jordan, [67]). Bis auf den Faktor i ist $\rho(t)$ also gleich der Summe der Residuen von $I(\omega)$.

Nehmen wir zunächst an, daß alle k_l verschieden sind, hat $I(\omega)$ nur einfache Pol-

stellen, und das Residuum an der Stelle $\omega = ik_l$ ist⁷

$$\text{Res}[I(\omega), \omega = ik_l] = -ik_l \prod_{\substack{j=1 \\ j \neq l}}^n \frac{k_j}{k_j - k_l} e^{-k_l t}. \quad (4.46)$$

Als First-passage-time-Verteilung für die Zustandskette (4.33) erhalten wir damit

$$\rho(t) = \sum_{l=1}^n r_l e^{-k_l t} \quad \text{mit} \quad r_l = k_l \prod_{\substack{j=1 \\ j \neq l}}^n \frac{k_j}{k_j - k_l}. \quad (4.47)$$

Nach Gleichung (4.37) ist für kleine Zeiten $\rho(t) \sim t^{n-1}$. Für große t verläuft $\rho(t)$ exponentiell, bestimmt durch die kleinste Übergangsrate k_j . Die Zustandskette (4.33) führt also auf fpt-Verteilungen, deren asymptotisches Verhalten mit den experimentellen Spontanzeitverteilungen übereinstimmt. Beispiele werden im nächsten Abschnitt gezeigt.

4.3.2 Anpassung der First-passage-time-Verteilung an experimentelle und simulierte Verteilungen

Um zu testen, ob mit diesem Ansatz auch eine quantitative Beschreibung der experimentellen Spontanintervallverteilungen möglich ist, soll versucht werden, $\rho(t)$ durch geeignete Parameterwahl an die experimentellen Daten anzupassen. Zur Reduktion der Zahl freier Parameter sollen jedoch nur zwei Spezialfälle betrachtet werden.

Fall 1: $k_1 = \dots = k_n = k$ Sind die Übergangswahrscheinlichkeiten für alle Schritte identisch, hat $I(\omega)$ an der Stelle $\omega = ik$ einen Pol n -ter Ordnung. Als Residuum an dieser Stelle erhält man

$$\text{Res}[I(\omega), \omega = ik] = -ik \frac{(kt)^{n-1}}{(n-1)!} e^{-kt} \quad (4.48)$$

und damit als fpt-Verteilung

$$\rho(t) = k \frac{(kt)^{n-1}}{(n-1)!} e^{-kt}. \quad (4.49)$$

Diese Verteilung wird auch als Gamma-Verteilung $\Gamma_n(t)$ bezeichnet. Sie liefert *keine* gute Beschreibung der experimentellen Daten, da sie zu symmetrisch ist. Ihre abfallende Flanke verläuft zu steil (Beispiele sind nicht gezeigt).

⁷Hat $f(z)$ an der Stelle $z = a$ eine m -fache Polstelle, dann gilt

$$\text{Res}[f(z), z = a] = \frac{1}{(m-1)!} \lim_{z \rightarrow a} \left(\frac{d}{dz} \right)^{m-1} (z-a)^m f(z).$$

Fall 2: $k_1 = \dots = k_{n-1} = k$, $k_n = k'$ Das Ergebnis, daß die Gamma-Verteilung (4.49) für große t zu steil verläuft, führt auf die Idee, einen Ansatz mit Übergangsraten auf zwei unterschiedlichen Zeitskalen zu versuchen: $n-1$ identische Schritte auf einer schnellen Zeitskala zur Beschreibung des Anstiegs der Verteilungen und eine langsamer Schritt zur Beschreibung des exponentiellen Verlaufs ab dem Maximum.

Für diese Wahl der k_j hat $I(\omega)$ einen Pol $(n-1)$ -ter Ordnung bei $\omega = ik$ und einen Pol erster Ordnung bei $\omega = ik'$ mit den Residuen

$$\text{Res}[I(\omega), \omega = ik] = i \sum_{l=0}^{n-2} k' \left(\frac{k}{k-k'} \right)^{n-1-l} \frac{(kt)^l}{l!} e^{-kt} \quad (4.50)$$

und

$$\text{Res}[I(\omega), \omega = ik'] = -ik' \left(\frac{k}{k-k'} \right)^{n-1} e^{-k't}. \quad (4.51)$$

Als First-passage-time-Verteilung ergibt sich damit

$$\rho(t) = k' \left(\frac{k}{k-k'} \right)^{n-1} \left\{ e^{-k't} - \sum_{l=0}^{n-2} \left(\frac{k}{k-k'} \right)^{-l} \frac{(kt)^l}{l!} e^{-kt} \right\}. \quad (4.52)$$

Fits dieser Verteilung an experimentelle Spontanintervallverteilungen sind in Abb. 4.4a,b gezeigt. Da $\rho(t)$ nichtlinear von k und k' abhängt, wurden die Fits iterativ durchgeführt. Dabei wurde eine Prozedur aus einer Programmbibliothek von Precision Plus Software verwendet [68], die auf dem Levenberg-Marquardt-Algorithmus basiert [69].

Zu einer befriedigenden Beschreibung des Anstiegs der Spontanintervallverteilungen muß man von einer relativ großen Anzahl n von Schritten ausgehen. Darüber, wie realistisch die Zahl von $n = 14$ wäre, kann bei der momentanen Kenntnis der molekularen Grundlagen des Schaltvorgangs nur spekuliert werden. Drei Schritte, wie sie von McCain et al. postuliert werden [19], reichen jedoch bei konstanten Übergangswahrscheinlichkeiten *nicht* aus, die Daten zu fitten. Festzuhalten bleibt, daß zur Beschreibung des exponentiellen Abfalls der Verteilung gefordert werden muß, daß ein Schritt auf einer langsameren Zeitskala ablaufen muß als die übrigen.

Gleichung (4.52) bietet darüberhinaus die Möglichkeit, experimentelle und mit dem Oszillatormodell simulierte Verteilungen zu vergleichen. Abb. 4.4c,d zeigt zwei Beispiele. Die unterschiedlichen Proportionen von experimentellen und simulierten Verteilungen zeigen sich zum einen darin, daß die Fits an simulierte Verteilungen entweder im vorderen oder im hinteren Bereich schlecht sind, und zum anderen in den Werten für k und k' ($k/k' \approx 10$ für experimentelle, $k/k' \approx 5$ für simulierte Verteilungen). Eine quantitative Beschreibung der Spontanintervallverteilung ist mit dem Oszillatormodell in der jetzigen Form nicht möglich. Insbesondere Verteilungen, die über einen großen Bereich exponentiell abfallen, verlaufen im vorderen Bereich zu steil.

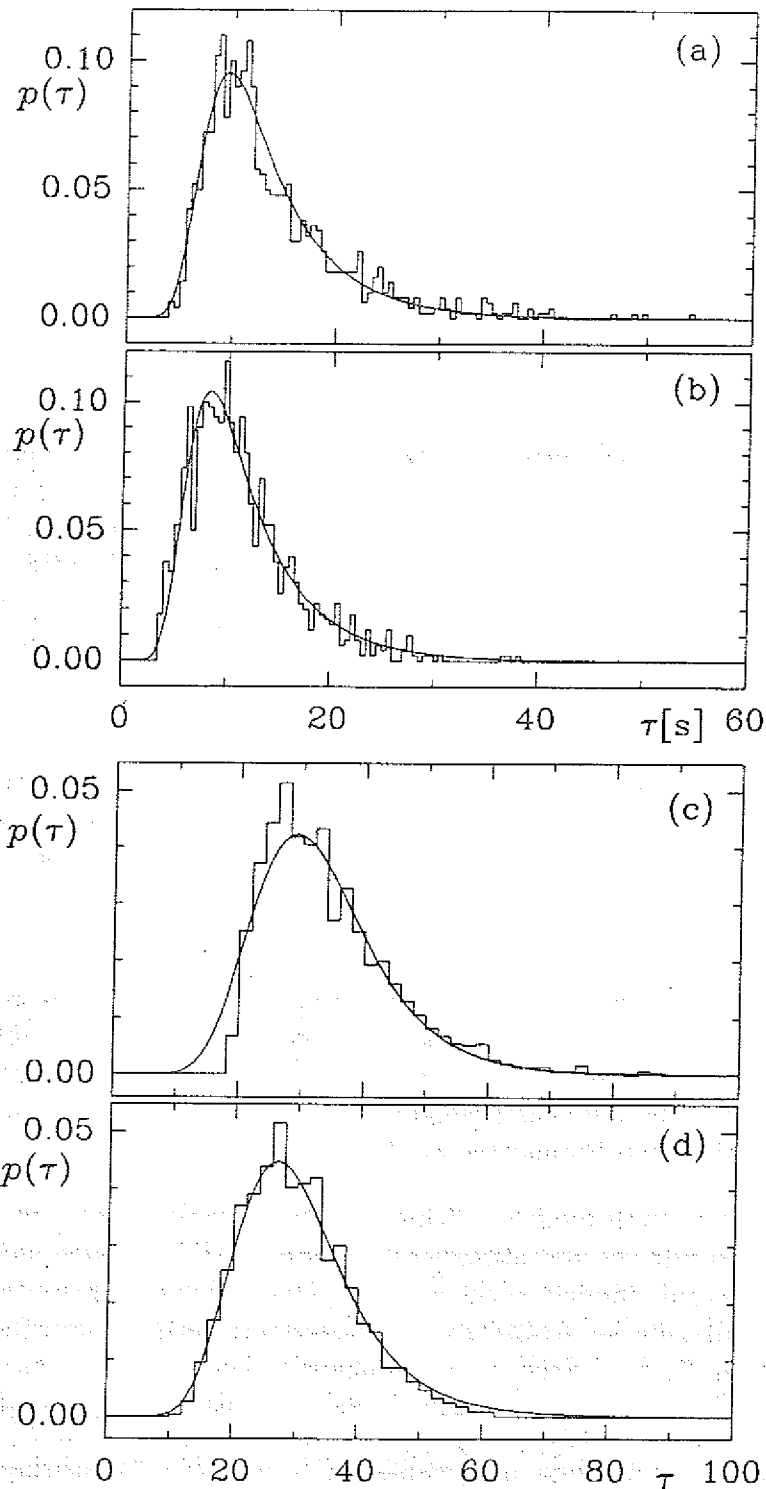


Abb. 4.4: Fits von Gleichung (4.52) an experimentelle (a,b) und mit dem Oszillatormodell simulierte (c,d) Spontanintervallverteilungen für $n = 14$: (a) Daten aus Abb. 1.1a mit $k = 1.76/\text{s}$, $k' = 0.17/\text{s}$; (b) Daten aus Abb. 1.1b mit $k = 2.06/\text{s}$, $k' = 0.18/\text{s}$; (c) Simulation aus Abb. 3.8 mit $k = 0.52$, $k' = 0.12$; (d) Simulation aus Abb. 3.7 mit $k = 0.57$, $k' = 0.12$.

Kapitel 5

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit möglichen Mechanismen zum Verständnis zeitlicher Strukturen im Schwimmverhalten von Halobakterien. Von dem Ansatz ausgehend, daß Schwimmintervallverteilungen als First-passage-time-Verteilungen aufzufassen sind, wurde zunächst ein phänomenologisches Modell diskutiert. Das **Zwei-Zustands-Modell** gibt zwar keine Antwort auf die Frage, was die Ursache für die charakteristische Struktur der Spontanzeitverteilungen ist, es ermöglicht jedoch in einfacher Weise eine Diskussion der Wirkung von Lichtreizen. Stichpunktartig ergaben sich folgende Ergebnisse:

- Mit der Annahme, daß einzelne Lichtreize während eines ganzen Schwimmintervalls in der gleichen Weise wirken, lassen sich die Antworten auf Attractant-Reize gut verstehen. Für Repellent-Reize ist dies nur dann ein erfolgreicher Ansatz, wenn man Reize betrachtet, die genügend lange nach einem Umkehrereignis gegeben werden.
- Die Antworten auf periodische Lichtreize lassen sich zu einem großen Teil reproduzieren, wenn man von einer alternierenden Folge von Repellent- und Attractant-Reizen ausgeht. Unverstanden bleibt dabei das Auftreten von Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen, wie sie zum Teil in den Experimenten beobachtet werden.
- Das Auftreten multimodaler Schwimmintervallverteilungen in den IBMX-Experimenten und die Refraktärzeit für Repellent-Reize lassen sich im Rahmen des Zwei-Zustands-Modells nicht erklären. Dazu wäre eine Erweiterung des Modells notwendig, die das Auftreten von „Aussetzern“ erlaubt. Ein Durchlaufen des Prozesses, der für den zeitlichen Abstand zweier Umkehrereignisse verantwortlich ist, muß möglich sein, ohne daß ein Umkehrereignis tatsächlich auftritt.

Die Hypothese von Schimz und Hildebrand, daß die Umkehrereignisse durch einen intrazellulären, biochemischen Oszillator ausgelöst werden [6], bildete den Ausgangspunkt für einen mikroskopischen Ansatz zur Erklärung der beobachteten Schwimmintervallverteilungen. Dazu wurde ein einfaches Reaktionssystem untersucht, das Grenzzyklus-Oszillationen zeigt und als destabilisierenden Schritt eine autokatalytische Reaktion dritter Ordnung enthält. Viele experimentelle Ergebnisse lassen sich

qualitativ gut verstehen, wenn man das System in einem Parameterbereich betrachtet, in dem die Oszillationen Merkmale einer Relaxationsoszillation zeigen. Dabei muß wegen der geringen Größe der Halobakterien die zeitliche Entwicklung des Systems als stochastischer Prozeß aufgefaßt werden. Auch die Simulationen zeigen, daß Fluktuationen wesentlich zum Verständnis der experimentellen Phänomene sind. Die Ergebnisse sind im einzelnen:

- Spontanintervallverteilungen zeigen eine Variabilität, die in Einklang mit experimentell gefundenen Verteilungen ist. Insbesondere erhält man Verteilungen, die etwa ab ihrem Maximum exponentiell verlaufen. Die simulierten Verteilungen haben jedoch eine steilere ansteigende Flanke als die experimentellen Verteilungen.
- Die Verringerung des Verhältnisses von Oszillationsamplitude und Schaltschwelle führt zu einem verstärkten Auftreten von Aussetzern. Eine Erklärung der Refraktärzeit für Repellent-Reize und der IBMX-Experimente ist dadurch möglich.
- Die Antworten auf einzelne Lichtreize lassen sich qualitativ gut reproduzieren, ohne daß angenommen werden muß, daß der zeitliche Verlauf des durch den Reiz verursachten, intrazellulären Signals vom Zeitpunkt des Reizes innerhalb eines Schwimmintervalls abhängt.
- Eine periodische Stimulierung führt in Übereinstimmung mit den Experimenten zur Aufspaltung der Spontanintervallverteilung in eine Verteilung mit mehreren Maxima. Wie beim Zwei-Zustands-Modell treten jedoch auch hier keine Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen auf.

Der Oszillatormechanismus erscheint so als erfolgreicher Ansatz zum Verständnis des Schwimmverhaltens von Halobakterien. Eine genauere Betrachtung der Simulationsergebnisse zeigt jedoch, daß das Oszillatormodell in zwei Punkten kritisch hinterfragt werden muß. Der erste betrifft die Abnahme der Effektivität eines Reizes als Funktion des Reizzeitpunktes bei Attractant-Reizen. Diese wird im Experiment nicht beobachtet. Der zweite, kritische Punkt ist die Abhängigkeit der Umkehrereignisse von der Phase der Stimulierung bei periodischen Reizen. Experimentell kann dieser Effekt auf die Signalverarbeitung zurückgeführt werden, während er beim Oszillatormodell als Eigenschaft des Oszillators verstanden werden muß. Eine weitere ungeklärte, aber sehr interessante Frage in Zusammenhang mit den Antworten auf periodische Reize ist, wie das Auftreten von Korrelationen zwischen aufeinanderfolgenden Schwimmintervallen verstanden werden kann. Ein möglicher Ansatzpunkt zur Klärung dieser Probleme wurde in Kap. 3.6 dargestellt.

Als zweiter, mikroskopischer Ansatz zur Erklärung der charakteristischen Struktur der Spontanintervallverteilung wurde die zeitliche Entwicklung einer Kette von Zuständen betrachtet. Dabei wird angenommen, daß der Geißelmotor oder eine mit ihm verbundene funktionelle Einheit zwischen zwei Umkehrereignissen eine Folge weniger Zustände durchlaufen muß. Dieser Ansatz knüpft an die Hypothese von McCain et al. an [19]. Er gestattet einen quantitativen Fit experimenteller Spontanintervallverteilungen, wenn man davon ausgeht, daß einer der Übergänge zwischen den Zuständen auf

einer langsameren Zeitskala stattfindet als die übrigen. Eine ausführlichere und zu einem Vergleich mit dem Oszillatormodell notwendige Untersuchung dieses Modells wurde nicht durchgeführt. Eine Beurteilung, wie angemessen der eine oder andere Ansatz ist, kann letztlich nur durch Experimente erfolgen.

Anhang A

Trimolekulare Reaktionen

Trimolekulare Reaktionen kommen in der Natur nur selten vor, da Dreierstöße sehr unwahrscheinlich sind. Es ist jedoch möglich, daß eine Folge bimolekularer Reaktionen effektiv durch eine trimolekulare Reaktion beschrieben werden kann, falls Größenunterschiede in Ratenkonstanten oder Konzentrationen eine Zeitskalentrennung erlauben. Dies soll an einem einfachen Beispiel, das die Reaktion $X + 2Y \rightarrow 3Y$ zumindest in einem gewissen Konzentrationsbereich approximiert, demonstriert werden. Dazu wird ein Zwischenprodukt Z eingeführt und die trimolekulare Reaktion durch die beiden bimolekularen Reaktionen



ersetzt. Die Ratengleichungen hierfür lauten

$$\begin{aligned} \dot{x} &= -k_3 x z \\ \dot{y} &= -2(k_1 y^2 - k_2 z) + k_3 x z \\ \dot{z} &= k_1 y^2 - k_2 z. \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

Wir betrachten nun den Grenzfall $k_3 \ll k_1$. Nach Einführung der normierten Variablen

$$\bar{x} = \frac{k_1}{k_2} x, \quad \bar{y} = \frac{k_1}{k_2} y, \quad \bar{z} = \frac{k_1}{k_2} z, \quad \bar{t} = \frac{k_2 k_3}{k_1} t \quad (\text{A.4})$$

und Elimination von y unter Verwendung des Erhaltungssatzes

$$x + y + 2z = \text{const} = C \quad \text{bzw.} \quad \bar{x} + \bar{y} + 2\bar{z} = \bar{C} \quad (\text{A.5})$$

gehen die Gleichungen (A.3) mit $\epsilon = k_3/k_1$ in

$$\frac{d\bar{x}}{d\bar{t}} = -\bar{x}\bar{z} \quad (\text{A.6})$$

$$\epsilon \frac{d\bar{z}}{d\bar{t}} = (\bar{C} - \bar{x} - 2\bar{z})^2 - \bar{z} \quad (\text{A.7})$$

über. Im Limes $\epsilon \rightarrow 0$ kann (A.7) durch die algebraische Gleichung

$$\bar{z}(\bar{t}) = (\bar{C} - \bar{x}(\bar{t}) - 2\bar{z}(\bar{t}))^2 = \bar{y}(\bar{t})^2 \quad (\text{A.8})$$

ersetzt werden. Die mathematische Grundlage hierfür bildet ein Satz von Tikhonov [70]. Gleichung (A.8) besagt, daß auf der Zeitskala $\frac{k_1}{k_2 k_3}$, d.h. auf der Zeitskala auf der die Reaktion (A.2) abläuft, die Konzentration von Z der Konzentration von Y unmittelbar folgt (z wird von y „versklavt“ (H. Haken)), falls $k_3 \ll k_1$ ist. Dies kann so interpretiert werden, daß Y und Z partiell im Gleichgewicht sind.

Die hier interessierenden Ratengleichungen erhält man dann unter Verwendung von (A.5), (A.6) und (A.8):

$$\frac{d\bar{x}}{d\bar{t}} = -\bar{x}\bar{y}^2, \quad \frac{d\bar{y}}{d\bar{t}} = \frac{\bar{x}\bar{y}^2}{1 + 4\bar{y}}. \quad (\text{A.9})$$

Die Abnahme von X wird also effektiv durch eine Reaktion dritter Ordnung beschrieben, allerdings ist $(d\bar{y}/d\bar{t}) \approx (-d\bar{x}/d\bar{t})$ nur für $\bar{y} \ll 1$, d.h. für $y \ll k_2/k_1$. Ursache hierfür ist, daß $\bar{z}(t)$ nicht konstant ist. Dieser Effekt kann vermieden werden, wenn man von enzymatischen Reaktionen mit beschränkter Enzymkonzentration ausgeht. Ein Beispiel dazu ist Sel'kovs Modell für Glykolyseoszillationen [47]. Die Elimination schnell relaxierender Variablen erfolgt nach demselben Muster wie oben, ist jedoch wegen der größeren Anzahl von Variablen aufwendiger.

Anhang B

Lokale Bifurkationen

Der Begriff der „Bifurkation“ ist direkt verknüpft mit dem Begriff der „strukturellen Stabilität“ eines dynamischen Systems. Betrachten wir dazu als dynamisches System das Differentialgleichungssystem

$$\dot{x} = f(x, \mu), \quad x \in \mathbb{R}^n, \quad \mu \in \mathbb{R}^m, \quad f: \mathbb{R}^n \mapsto \mathbb{R}^n \quad (\text{B.1})$$

mit dynamischen Variablen $x_1, \dots, x_n$ und Kontrollparametern $\mu_1, \dots, \mu_m$. Vereinfacht ausgedrückt heißt dieses System strukturell stabil, falls „kleine“ Störungen von f das qualitative Verhalten der Lösungen von (B.1) nicht ändern. Tritt infolge einer Variation der Kontrollparameter eine qualitative Änderung des Verhaltens auf, spricht man von einer Bifurkation. Der *Bifurkationspunkt* $\mu_c \in \mathbb{R}^m$ des Parameterraumes ist definiert als der Punkt, in dem (B.1) *strukturell instabil* ist [71].

Das Auftreten einer *lokalen* Bifurkation, d.h. einer Bifurkation, die vollständig durch das Phasenportrait in der Umgebung eines Punktes im Phasenraum charakterisiert werden kann, ist eng mit der Änderung der Stabilität stationärer Punkte verknüpft. Wie lokale Bifurkationen aufgefunden und charakterisiert werden können, soll hier kurz dargestellt werden.

Lineare Stabilität stationärer Punkte

Die stationären Zustände oder Fixpunkte x_{st} von (B.1) sind Lösungen der algebraischen Gleichungen

$$f(x, \mu) = 0. \quad (\text{B.2})$$

Information über die Stabilität der stationären Zustände erhält man durch die Untersuchung des zeitlichen Verhaltens kleiner Abweichungen aus dem stationären Zustand. Dazu substituieren wir in (B.1) $x(t) = x_{st} + \Delta x(t)$ und entwickeln bis zur linearen Ordnung in $\Delta x(t)$. Wegen $\dot{x}_{st} = 0$ ergibt sich

$$\frac{d\Delta x}{dt} = J_{|st} \Delta x \quad (\text{B.3})$$

mit der Jacobi-Matrix

$$(J_{jk})_{|st} = \left(\frac{\partial f_j}{\partial x_k} \right)_{|x=x_{st}}. \quad (\text{B.4})$$

(B.3) hat als lineares Differentialgleichungssystem Lösungen der Form

$$\Delta x_j(t) = \sum_{l=1}^r z_j^{(l)}(t) \exp(\lambda_l t), \quad (\text{B.5})$$

wobei $\lambda_1, \dots, \lambda_r$ die disjunkten Eigenwerte der Matrix $J_{|st}$ mit Vielfachheiten $\nu_1, \dots, \nu_r$, $\sum_l \nu_l = n$, sind. Da $J_{|st}$ reelle Koeffizienten hat, sind die Eigenwerte entweder reell oder paarweise konjugiert komplex. Die Funktionen $z_j^{(l)}(t)$ sind Polynome in t vom Grad $g \leq \nu_l - 1$.

Das Verhalten kleiner Störungen der stationären Zustände wird also asymptotisch durch die Eigenwerte von $J_{|st}$ bestimmt. Sind die Realteile aller λ *negativ*, werden Störungen Δx im Laufe der Zeit gedämpft, der Fixpunkt ist *stabil*. Hat wenigstens ein λ einen *positiven* Realteil, lassen sich immer Anfangswerte finden, die zu einem Anwachsen von Δx führen, der Fixpunkt ist *instabil*.

Lokale Bifurkationen – Hopfbifurkation

Punkte, in denen ein stationärer Zustand seine Stabilität ändert, sind Bifurkationspunkte für lokale Bifurkationen ([71], Kap. 3). Die gesamte Information über die Bifurkation ist dabei im linearisierten System (B.3) enthalten. Die verschiedenen möglichen Bifurkationen werden dadurch klassifiziert, auf welche Weise der Fixpunkt seine Stabilität ändert. Für uns ist die *Hopfbifurkation* von besonderem Interesse, bei der zwei konjugiert komplexe Eigenwerte von $J_{|st}$ bei Parameterwerten μ_c die imaginäre Achse kreuzen. Der Fixpunkt wechselt dabei von einem stabilen zu einem instabilen Fokus. Gleichzeitig bifurkiert eine zeitabhängige, periodische Lösung mit Amplitude null vom stationären Zustand [72], wie in Abb. B.1 gezeigt. Diese Lösung läuft im Phasenraum auf einer geschlossenen Trajektorie und ist *orbital stabil*, d.h. alle Trajektorien, die in der Nähe der geschlossenen Trajektorie starten, konvergieren schließlich gegen sie. Aus diesem Grund spricht man auch von einem *Grenzzyklus*. Grenzzyklen zeichnen sich neben ihrer orbitalen Stabilität auch dadurch aus, daß sie strukturell stabil sind. Im Gegensatz zu konservativen Oszillationen können sie deswegen in realen Systemen beobachtet werden.

Neben dem beschriebenen superkritischen Bifurkationsschema existiert auch eine subkritische Hopfbifurkation, bei der ein instabiler Fokus unter Abspaltung eines instabilen Grenzzyklus in einen stabilen Fokus wechselt.

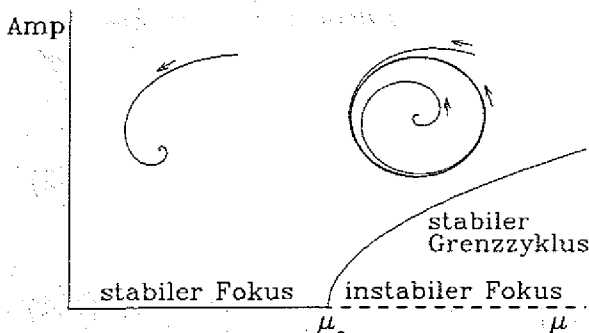


Abb. B.1: Superkritische Hopfbifurkation: Phasenportrait und Amplitude der Lösung als Funktion eines Kontrollparameters.

Anhang C

Simulationsalgorithmen

Betrachten wir einen diskreten Markoffprozeß, dessen zeitliche Entwicklung durch eine Mastergleichung

$$\dot{p}_n = \sum_{n'} \{w_{nn'} p_{n'} - w_{n'n} p_n\}, \quad p_n(0) = \delta_{nn_0} \quad (\text{C.1})$$

beschrieben wird. Bei einer Simulation des Prozesses werden Zeitpunkt und Richtung einer Zustandsänderung unabhängig voneinander zufällig bestimmt. Der gesamte Algorithmus besteht dabei im wesentlichen aus drei Schritten:

Initialisierung Setze die Zeitvariable t auf $t = 0$ und n auf den Anfangszustand n_0 .
Definiere eine Abbruchbedingung, bei deren Eintreten die Simulation gestoppt wird, z.B. $t > t_{\max}$.

1. **Schritt** Bestimme die Verweildauer τ im Zustand n und setze $t \rightarrow t + \tau$.
2. **Schritt** Bestimme das Sprungziel n' und setze $n \rightarrow n'$.
3. **Schritt** Beende die Simulation, falls die Abbruchbedingung erfüllt ist oder das System einen absorbierenden Zustand erreicht hat. Andernfalls fahre mit dem 1. Schritt fort.

In dieser Arbeit werden wir zwei Simulationsalgorithmen verwenden, die sich im Verfahren, mit dem die Verweildauer τ in einem Zustand bestimmt wird, unterscheiden.

Simulation mit variablem Zeitschritt (Gillespie-Algorithmus)

Für einen diskreten, zeitlich homogenen Markoffprozeß ist die Verweildauer in einem Zustand eine exponentiell verteilte Zufallsvariable (siehe z.B. [73]). Von Gillespie stammt ein Algorithmus, bei dem die Verweildauer mit der richtigen Verteilung direkt erzeugt wird [74, 75].

Unter Verwendung der Übergangswahrscheinlichkeiten $w_{n'n}$ ergibt sich als Wahrscheinlichkeitsdichte ρ_τ von τ

$$\rho_\tau(t) = W_n \exp(-W_n t) \quad \text{mit} \quad W_n = \sum_{n'} w_{n'n}. \quad (\text{C.2})$$

W_n ist die Übergangswahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit von n in irgendeinen anderen, möglichen Zustand. Mit Hilfe der üblicherweise auf Rechnern verfügbaren, im Intervall $[0,1[$ gleichverteilten Zufallszahlen können durch eine einfache Transformation solche mit der gewünschten Verteilung erzeugt werden: Ist z im Intervall $[0,1[$ gleichverteilt, dann ist

$$\tau = -\frac{1}{W_n} \ln(1 - z) \quad (\text{C.3})$$

eine Zufallszahl mit der Exponentialverteilung (C.2). Im übernächsten Abschnitt wird eine entsprechende Formel für die Verweildauer mit einer Verteilung, wie sie im Zwei-Zustands-Modell vorkommt, abgeleitet.

Der Zielzustand n' wird mit Hilfe einer zweiten Zufallszahl bestimmt. Da die verschiedenen Sprünge disjunkte Ereignisse sind (das System kann nicht gleichzeitig in zwei Zuständen landen), ist die Wahrscheinlichkeit, daß ein Sprung von n nach n' stattfindet,

$$W\{\text{Zielzustand ist } n'\} = \frac{w_{n'n}}{W_n}. \quad (\text{C.4})$$

Nehmen wir an, daß alle möglichen Zielzustände durchnummeriert sind, $n' = 0, 1, 2, \dots$, kann der Zielzustand n' durch die Bedingung

$$\frac{1}{W_n} \sum_{n''=0}^{n'-1} w_{n''n} \leq z < \frac{1}{W_n} \sum_{n''=0}^{n'} w_{n''n} \quad (\text{C.5})$$

gefunden werden, wobei z wieder eine in $[0,1[$ gleichverteilte Zufallszahl ist.

Simulation mit vorgegebenem Zeitschritt

Bei der Simulation mit vorgegebenem Zeitschritt Δt wird unter Verwendung der kumulativen Übergangswahrscheinlichkeit W_n „gewürfelt“, ob die Verweildauer innerhalb eines kleinen Zeitintervalls $t < \tau \leq t + \Delta t$ liegt.

$W_n dt$ ist die Wahrscheinlichkeit, daß der momentane Zustand n innerhalb des nächsten, infinitesimalen Zeitintervalls dt verlassen wird. In der Praxis muß man natürlich mit einem endlichen Zeitintervall Δt rechnen, wobei immer sichergestellt werden muß, daß $W_n \Delta t < 1$ ist. Um zu entscheiden, ob der momentane Zustand innerhalb des nächsten Zeitintervalls verlassen wird, würfelt man eine in $[0,1[$ gleichverteilte Zufallszahl z . Diese liegt mit der Wahrscheinlichkeit $W_n \Delta t$ im Intervall $[0, W_n \Delta t]$, so daß der Zustand verlassen wird, falls die Bedingung

$$z \leq W_n \Delta t \quad (\text{C.6})$$

erfüllt ist. Zur Bestimmung der Verweildauer τ würfelt man so lange Zufallszahlen und erhöht τ um Δt , bis ein z die Bedingung (C.6) erfüllt. D.h., es ist $\tau = k\Delta t$, falls k Zufallszahlen gezogen werden müssen. Anschließend wird der Zielzustand nach dem gleichen Verfahren wie beim Gillespie-Algorithmus bestimmt.

Der Vorteil dieses Verfahrens zur Bestimmung der Verweildauer besteht darin, daß die Transformation einer gleichverteilten Zufallsvariablen auf die Zufallsvariable

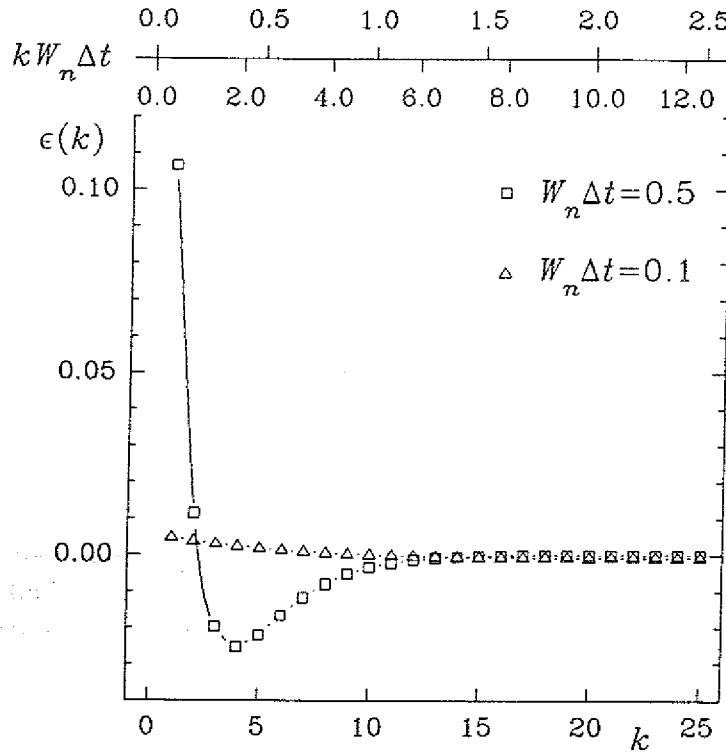


Abb. C.1: Abhängigkeit des Fehlers ϵ bei der Bestimmung der Wahrscheinlichkeit $W\{(k-1)\Delta t < \tau \leq k\Delta t\}$ in Abhängigkeit von der Zahl der Schritte k und von Δt (Gl. (C.11)). Auf den oberen beiden Skalen ist τ in Einheiten von W_n^{-1} für $W_n\Delta t = 0.1$ (oben) und $W_n\Delta t = 0.5$ (unten) aufgetragen. Die Verbindungslinie zwischen den Punkten dient nur als Führung für das Auge.

τ entfällt. Wir werden das Verfahren in einigen Fällen verwenden, in denen die Übergangswahrscheinlichkeiten $w_{n'n}$ explizit von der Zeit abhängen. In diesem Fall haben die Wahrscheinlichkeitsdichte ρ_τ und die zugehörige Transformation nicht die einfache Form (C.2) bzw. (C.3). Der Nachteil des Verfahrens besteht in der Diskretisierung der Zeit. Zum einen ist dadurch keine Aussage über Vorgänge möglich, die auf einer Zeitskala kleiner als Δt ablaufen, zum anderen macht man Fehler bei der Bestimmung von τ , die von Δt und der absoluten Größe von τ abhängen. Dies ist in Abb. C.1 für den Fall konstanter Übergangswahrscheinlichkeiten illustriert.

Nimmt man an, daß die Verweildauer nur diskrete Werte $\Delta t, 2\Delta t, \dots$ annehmen kann, ist die Wahrscheinlichkeit p_k , daß τ zwischen $(k-1)\Delta t$ und $k\Delta t$ liegt, also genau k Zeitschritte gemacht werden müssen,

$$p_k = W\{(k-1)\Delta t < \tau \leq k\Delta t\} = W_n\Delta t(1 - W_n\Delta t)^{k-1}. \quad (\text{C.7})$$

p_k ist auf eins normiert, denn

$$\sum_{k=1}^{\infty} p_k = W_n\Delta t \sum_{k=0}^{\infty} (1 - W_n\Delta t)^k = \frac{W_n\Delta t}{1 - (1 - W_n\Delta t)} = 1, \quad (\text{C.8})$$

und der Erwartungswert von k ist¹

$$\langle k \rangle = \sum_{k=1}^{\infty} k p_k = \frac{1}{W_n \Delta t}. \quad (\text{C.9})$$

Wir erhalten damit für τ denselben Erwartungswert wie bei der Exponentialverteilung (C.2):

$$\langle \tau \rangle = \langle k \rangle \Delta t = \frac{1}{W_n}. \quad (\text{C.10})$$

Der absolute Fehler $\epsilon(k)$ bei der Bestimmung der $W\{(k-1)\Delta t < \tau \leq k\Delta t\}$ ist durch

$$\epsilon(k) = W_n \Delta t (1 - W_n \Delta t)^{k-1} - \int_{(k-1)\Delta t}^{k\Delta t} \rho_\tau(t) dt \quad (\text{C.11})$$

gegeben, mit ρ_τ gemäß Gleichung (C.2). Der Fehler geht mit zunehmender Zahl der Schritte gegen null (Abb. C.1). Bei einer Simulation mit festem Zeitschritt kommen also große τ etwa mit der richtigen relativen Häufigkeit vor. In Abhängigkeit von $W_n \Delta t$ können bei einer kleinen Anzahl k von Zeitschritten die relativen Häufigkeiten jedoch viel zu groß oder zu klein sein. Bei der Beurteilung der Abhängigkeit des Fehlers von der Schrittweite ist außerdem zu beachten, daß man Ereignisse in unterschiedlich großen Zeitintervallen betrachtet. Im Beispiel von Abb. C.1 erreicht man also durch die Verminderung von Δt um den Faktor fünf einen großen Genauigkeitsgewinn. Entwicklung von $\epsilon(k)$ nach $W_n \Delta t$

$$\epsilon(k) = \frac{1}{2} (W_n \Delta t)^2 + \mathcal{O}((W_n \Delta t)^3) \quad (\text{C.12})$$

zeigt, daß der Fehler quadratisch in $W_n \Delta t$ gegen null geht. Bei den Simulationen werden wir den Zeitschritt daher so wählen, daß stets $W_n \Delta t \leq 0.1$ ist. Im Mittel müssen also zehn oder mehr Zeitschritte gemacht werden.

Der Gillespie-Algorithmus für das Zwei-Zustands-Modell

Zur Simulation des stochastischen Prozesses, wie er im Zwei-Zustands-Modell vorkommt, müssen Zufallszahlen τ mit einer Wahrscheinlichkeitsdichte der Form

$$p_\tau(t) = w(t) \exp \left\{ - \int_0^t w(t') dt' \right\}, \quad t \geq 0, \quad w(t) \geq 0 \quad (\text{C.13})$$

gewürfelt werden. Gesucht ist eine Funktion $f: [0, 1[\mapsto \mathbb{R}^{\geq 0}$, die die folgenden Eigenschaften hat:

• f ist streng monoton wachsend.

• $f(0) = 0$

(C.14)

¹Die Reihe in Gleichung (C.9) läßt sich durch die Substitution $x = 1 - W_n \Delta t$ auf die Taylorreihe $\sum_{k=0}^{\infty} (k+1)x^k = (1-x)^{-2}$ zurückführen.

$$\tau = f(\phi) \quad (\text{C.15})$$

ist eine Zufallszahl mit der Wahrscheinlichkeitsdichte (C.13), falls ϕ eine gleichverteilte Zufallszahl mit der Wahrscheinlichkeitsdichte

$$p_\phi(z) = \begin{cases} 1 & 0 \leq z < 1 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (\text{C.16})$$

ist.

Wegen der Monotonie ist f umkehrbar, und g sei die Umkehrfunktion, also

$$\phi = f^{-1}(\tau) = g(\tau), \quad (\text{C.17})$$

wobei wegen (C.14) $g(0) = 0$ ist.

Gleichung (C.15) bedeutet die Verknüpfung der Ereignisse $t \leq \tau \leq t + \Delta t$ und $z \leq \phi \leq z + \Delta z$. Für die Verteilungsfunktionen P_τ und P_ϕ von τ und ϕ muß daher gelten („Erhaltung der Wahrscheinlichkeit“):

$$P_\tau(t) = \int_0^t p_\tau(t') dt' = \int_0^{z=g(t)} p_\phi(z') dz' = P_\phi(z). \quad (\text{C.18})$$

Mit Gleichung (C.16) ergibt sich daraus

$$z = P_\tau(t) \quad (\text{C.19})$$

und nach Umkehrung

$$t = f(z) = P_\tau^{-1}(z). \quad (\text{C.20})$$

Die gesuchte Funktion f ist also die Umkehrfunktion der Verteilungsfunktion P_τ von τ . Damit ist auch die Annahme über die Umkehrbarkeit von f gerechtfertigt, da P_τ streng monoton wachsend ist und deshalb auch eine streng monoton wachsende Umkehrfunktion besitzt.

Mit $p_\tau(t)$ aus Gleichung (C.13) erhalten wir unter Verwendung von (C.19)

$$z = 1 - \exp \left\{ - \int_0^t w(t') dt' \right\} \quad (\text{C.21})$$

und nach Logarithmieren

$$\int_0^t w(t') dt' = -\ln(1 - z). \quad (\text{C.22})$$

Dies ist die Gleichung (C.3) entsprechende Beziehung. Für $w(t) = W_n = \text{const.}$ erhält man direkt (C.3).

Für die im Zwei-Zustands-Modell gewählte Übergangswahrscheinlichkeit $w(t)$ läßt sich (C.22) leider nicht nach t auflösen, so daß dort (C.22) bei jedem Simulationsschritt numerisch gelöst werden muß. Wegen der Monotonie von P_τ ist dies jedoch unproblematisch. Es existiert immer genau eine Lösung $t \geq 0$. Zur Erzeugung der Zufallszahlen wurde bei allen Verfahren der zu Microsoft FORTRAN gelieferte Generator benutzt.

Literaturverzeichnis

- [1] BERRIDGE, M.J. & RAPP, P.E. (1979): A comparative survey of the function, mechanism and control of cellular oscillators. *J. exp. Biol.*, **81**, 217-279
- [2] WINFREE, A.T. (1980): *The Geometry of Biological Time*. Springer-Verlag, New York
- [3] WEVER, R.A. (1979): *The Circadian System of Man*. Springer-Verlag, Heidelberg
- [4] PÖPPEL, E. & LOGOTHETIS, N. (1986): Neuronal oscillations in the human brain. *Naturwissenschaften*, **73**, 267-268
- [5] ALAM, M. & OESTERHELT, D. (1984): Morphology, function and isolation of halobacterial flagella. *J. Mol. Biol.*, **176**, 459-475
- [6] SCHIMZ, A. & HILDEBRAND, E. (1985): Response regulation and sensory control in *Halobacterium halobium* based on an oscillator. *Nature*, **317**, 641-643
- [7] HILDEBRAND, E. & SCHIMZ, A. (1985): Behavioral pattern and its photosensory control in *Halobacterium halobium*. In: EISENBACH, M. & BALABAN, M. (Eds.): *Sensing and Response in Microorganisms*, p. 129-142, Elsevier Publishers, Amsterdam
- [8] HILDEBRAND, E. & DENCHER, N. (1975): Two photosystems controlling behavioural responses of *Halobacterium halobium*. *Nature*, **257**, 46-48
- [9] SPUDICH, J.L. & STOECKENIUS, W. (1979): Photosensory and chemosensory behavior of *Halobacterium halobium*. *Photobiochem. Photobiophys.*, **1**, 43-53
- [10] HILDEBRAND, E. & SCHIMZ, A. (1983): Photosensory behavior of a bacteriorhodopsin-deficient mutant, ET-15, of *Halobacterium halobium*. *Photochem. Photobiol.*, **37**, 581-584
- [11] MARWAN, W. & OESTERHELT, D. (1987): Signal formation in the halobacterial photophobic response mediated by a fourth retinal protein (P₄₈₀). *J. Mol. Biol.*, **195**, 333-342
- [12] SCHIMZ, A. & HILDEBRAND, E. (1979): Chemosensory responses of *Halobacterium halobium*. *J. Bacteriol.*, **140**, 749-753

- [13] STOECKENIUS, W., LOZIER, R.H. & BOGOMOLNI, R.A. (1979): Bacteriorhodopsin and the purple membrane of halobacteria. *Biochim. Biophys. Acta*, **505**, 215-278
- [14] LANYI, J.K. (1986): Halorhodopsin: a light-driven chloride ion pump. *Ann. Rev. Biophys. Chem.*, **15**, 11-28
- [15] BOGOMOLNI, R.A. & SPUDICH, J.L. (1982): Identification of a third rhodopsin-like pigment in phototactic *Halobacterium halobium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 6250-6254
- [16] TAKAHASHI, T., TOMIOKA, H., KAMO, N. & KOBATAKE, Y. (1985): A photo-system other than PS 370 also mediates the negative phototaxis of *Halobacterium halobium*. *FEMS Microbiol. Lett.*, **28**, 161-164
- [17] SPUDICH, J.L. & BOGOMOLNI, R.A. (1988): Sensory rhodopsins of halobacteria. *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.*, **17**, 193-215
- [18] SPUDICH, E.N. & SPUDICH, J.L. (1982): Control of transmembrane ion fluxes to select halorhodopsin-deficient and other energy-transduction mutants of *Halobacterium halobium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 4308-4312
- [19] MCCAIN, D.A., AMICI, L.A. & SPUDICH, J.L. (1987): Kinetically resolved states of the *Halobacterium halobium* flagellar motor switch by sensory rhodopsin I. *J. Bacteriol.*, **169**, 4750-4758
- [20] KROHS, U.: unveröffentlichte Daten
- [21] HILDEBRAND, E. & SCHIMZ, A. (1986): Integration of photosensory signals in *Halobacterium halobium*. *J. Bacteriol.*, **167**, 305-311
- [22] SCHIMZ, A. & HILDEBRAND, E. (1986): Entrainment and temperature dependence of the response oscillator in *Halobacterium halobium*. *J. Bacteriol.*, **166**, 689-692
- [23] SCHIMZ, A. & HILDEBRAND, E. (1992): Nonrandom structures in the locomotor behavior of *Halobacterium*: A bifurcation route to chaos? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 457-460
- [24] LUCIA, S., ASCOLI, C., PETRACCHI, D. & VANNI, L. (1989): Motor responses of *Halobacterium halobium* to sinusoidal light stimuli. *Biosci. Rep.*, **9**, 481-487
- [25] LUCIA, S., ASCOLI, C. & PETRACCHI, D. (1992): Photobehavior of *Halobacterium halobium*: sinusoidal stimulation and a suppression effect of responses to flashes. *Biophys. J.*, **61**, 1529-1539
- [26] SCHIMZ, A. & HILDEBRAND, E. (1989): Periodicity and chaos in the response of *Halobacterium* to temporal light gradients. *Europ. Biophys. J.*, **17**, 237-243

- [27] AMER, M.S. & KREIGHBAUM, W.E. (1975): Cyclic nucleotide phosphodiesterases: properties, activators, inhibitors, structure-activity relationships, and possible role in drug development. *J. Pharmacol. Sci.*, **64**, 1-37
- [28] OESTERHELT, D. & MARWAN, W. (1987): Change of membrane potential is not a component of the photophobic transduction chain in *Halobacterium halobium*. *J. Bacteriol.*, **169**, 3515-3535
- [29] SCHIMZ, A. & HILDEBRAND, E. (1987): Effects of cGMP, calcium and reversible methylation on sensory signal processing in halobacteria. *Biochim. Biophys. Acta*, **923**, 222-232
- [30] MARWAN, W., SCHÄFER, W. & OESTERHELT, D. (1990): Signal transduction in *Halobacterium* depends on fumarate. *EMBO J.*, **9**, 355-363
- [31] MARWAN, W. & OESTERHELT, D. (1991): Light-induced release of the switch factor during photophobic responses of *Halobacterium halobium*. *Naturwissenschaften*, **78**, 127-129
- [32] SCHIMZ, A. (1981): Methylation of membrane proteins is involved in chemosensory and photosensory behavior of *Halobacterium halobium*. *FEBS Lett.*, **125**, 205-207
- [33] SCHIMZ, A. (1982): Localization of the methylation system involved in sensory behavior of *Halobacterium halobium*. *FEBS Lett.*, **139**, 283-286
- [34] SPUDICH, E.N., HASSELBACHER, C.A. & SPUDICH, J.L. (1988): Methyl-accepting protein associated with bacterial sensory rhodopsin I. *J. Bacteriol.*, **170**, 4280-4285
- [35] ALAM, M., LEBERT, M., OESTERHELT, D. & HAZELBAUER, G.L. (1989): Methyl-accepting taxis proteins in *Halobacterium halobium*. *EMBO J.*, **8**, 631-639
- [36] SPUDICH, E.N., TAKAHASHI, T. & SPUDICH, J.L. (1989): Sensory rhodopsins I and II modulate a methylation/demethylation system in *Halobacterium halobium* phototaxis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 7746-7750
- [37] VAN KAMPEN, N.G. (1981): *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*. 6th printing, North-Holland, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam
- [38] HARTMANN, R., SICKINGER, H.-D. & OESTERHELT, D. (1977): Quantitative aspects of energy conversion in halobacteria. *FEBS Lett.*, **82**, 1-6
- [39] GARDINER, C.W. (1985): *Handbook of Stochastic Methods for Physics, Chemistry and the Natural Sciences*. 2nd edition, Springer series in synergetics **13**, Springer-Verlag, Berlin
- [40] ATKINS, P.W. (1990): *Physical Chemistry*. 4th edition, Oxford University Press, Oxford

- [41] VLAD, M.O., POPA, V.T. & SEGAL, E. (1984): A master equation description of age dependent systems. *Phys. Lett.*, 100A, 387-391
- [42] BRONSTEIN, I.N. & SEMENDJAJEW, K.A. (1989): *Taschenbuch der Mathematik*. 24. Auflage, Verlag Harri Deutsch, Thun, Frankfurt/Main
- [43] MARWAN, W., ALAM, M. & OESTERHELT, D. (1991): Rotation and switching of the flagellar motor assembly in *Halobacterium halobium*. *J. Bacteriol.*, 173, 1971-1977
- [44] WALTER, C. (1969): Oscillations in controlled biochemical systems. *Biophys. J.*, 9, 863-872; Stability of controlled biological systems. *J. theor. Biol.*, 23, 23-38; The absolute stability of certain types of controlled biological systems. *J. theor. Biol.*, 23, 39-52
- [45] WALTER, C. (1970): The occurrence and the significance of limit cycle behavior in controlled biochemical systems. *J. theor. Biol.*, 27, 259-272
- [46] RAPP, P.E. & BERRIDGE, M.J. (1977): Oscillations in calcium - cyclic AMP control loops form the basis of pacemaker activity and other high frequency biological rhythms. *J. theor. Biol.*, 66, 497-525
- [47] SEL'KOV, E.E. (1968): Self-oscillations in glycolysis. *Europ. J. Biochem.*, 4, 79-86
- [48] SEGEL, I.H. (1975): *Enzyme Kinetics*, John Wiley Inc., New York
- [49] TYSON, J.J. & LIGHT, J.C. (1973): Properties of two-component bimolecular and trimolecular chemical reaction systems. *J. Chem. Phys.*, 59, 4164-4173
- [50] SCHNAKENBERG, J. (1979): Simple chemical reaction systems with limit cycle behaviour. *J. theor. Biol.*, 81, 389-400
- [51] NICOLIS, G. (1971): Stability and dissipative structures in open systems far from equilibrium. *Adv. Chem. Phys.*, 19, 209-324
- [52] PRIGOGINE, I. & LEFEVER, R. (1968): Symmetry breaking instabilities in dissipative systems. II. *J. Chem. Phys.*, 48, 1695-1700
- [53] LEFEVER, R. & NICOLIS, G. (1971): Chemical instabilities and sustained oscillations. *J. theor. Biol.*, 30, 267-284
- [54] GOLDBETER, A., DUPONT, G. & BERRIDGE, M.J. (1990): Minimal model for signal-induced Ca^{2+} oscillations and for their frequency encoding through protein phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 1461-1465
- [55] TYSON, J.J. (1973): Some further studies of nonlinear oscillations in chemical systems. *J. Phys. Chem.*, 58, 3919-3930

- [56] ENGELN-MÜLLGES, G. & REUTTER, F. (1988): *Formelsammlung zur Numerischen Mathematik mit Standard FORTRAN-77 Programmen*. 6. Auflage, B.I.-Verlag, Mannheim
- [57] NITZAN, A., ORTOLEVA, P., DEUTCH, J. & ROSS, J. (1974): Fluctuations and transitions at chemical instabilities: The analogy to phase transitions. *J. Chem. Phys.*, **61**, 1056-1074
- [58] THOMPSON, J.M.T. & STEWART, H.B. (1986): *Nonlinear Dynamics and Chaos*, John Wiley Inc., New York
- [59] VOET, D. & VOET, J.G. (1990): *Biochemistry*, John Wiley Inc., New York
- [60] HILL, A.V. (1910): The possible effects of the aggregation of the molecules of hæmoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.*, **40**, Suppl. iv-vii
- [61] TOMITA, K., OHTA, T. & TOMITA, H. (1974): Irreversible circulation and orbital revolution. *Prog. Theor. Phys.*, **52**, 1744-1765
- [62] VAN KAMPEN, N.G. (1976): The expansion of the master equation. *Adv. Chem. Phys.*, **34**, 245-309
- [63] FEISTEL, R. & EBELING, W. (1978): Deterministic and stochastic theory of sustained oscillations in autocatalytic reaction systems. *Physica*, **93A**, 114-137
- [64] RISKEN, H. (1984): *The Fokker-Planck Equation*. Springer series in synergetics **18**, Springer-Verlag, Berlin
- [65] ZHOU, T., MOSS, F. & JUNG, P. (1990): Escape-time distributions of a periodically modulated bistable system with noise. *Phys. Rev. A*, **42**, 3161-3169
- [66] SCHNAKENBERG, J. (1986): Stochastische Prozesse II. Vorlesung an der RWTH Aachen im Wintersemester 1986/87
- [67] NIEMEYER, H. (1984): Höhere Mathematik IV. Vorlesung an der RWTH Aachen im Sommersemester 1984
- [68] PROCEDURE MRQMIN aus MATHPAK 87 for Turbo Pascal, Version 3.0. Precision Plus Software, Oakville, Ontario, 1988
- [69] PRESS, W.H., FLAMERY, B.P., TEUKOLSKY, S.A. & VETTERLING, W.T. (1989): *Numerical Recipes in Pascal*. Cambridge University Press, Cambridge
- [70] TIKHONOV, A.N. (1952): Systems of differential equations containing small parameters in the derivatives. *Mat. Sb.*, **31**, 574-586
- [71] GUCKENHEIMER, J. & HOLMES, P. (1983): *Nonlinear Oscillations, Dynamical Systems, and Bifurcation of Vector Fields*. Applied Mathematical Sciences **42**, Springer-Verlag, New York

- [72] MARSDEN, J. & MCCrackEN, M. (ed.) (1971): *The Hopf-Bifurcation Theorem and its Applications*. Springer-Verlag, New York
- [73] FAHRMEIR, L., KAUFMANN, H. & OST, F. (1981): *Stochastische Prozesse: Eine Einführung in Theorie und Anwendungen*. Hanser-Verlag, München
- [74] GILLESPIE, D.T. (1976): A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. *J. Comput. Phys.*, **22**, 403-434
- [75] GILLESPIE, D.T. (1977): Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *J. Phys. Chem.*, **81**, 2340-2361

Mein Dank gilt:

Herrn Prof. E. Hildebrand für die Möglichkeit, mich in seiner Arbeitsgruppe mit diesem Thema zu beschäftigen, für seine stete Diskussionsbereitschaft und die Unterstützung beim Fortgang der Arbeit,

Herrn U. Krohs für viele klärende Gespräche und die Zustimmung, bisher unveröffentlichte Ergebnisse seiner Arbeit in meiner Dissertation verwenden zu dürfen,

Frau A. Schimz und Herrn F. Drepper für anregende Diskussionen,

Herrn Prof. J. Schnakenberg für die Übernahme des Co-Referats und sein Interesse an dieser Arbeit

und nicht zuletzt meiner Freundin Ulla Hahn für ihre Geduld und Unterstützung, vor allen Dingen während der Schlußphase der Arbeit.

Handwritten text, mostly illegible due to extreme fading. Some words like "The" and "and" are visible at the beginning of lines.

Handwritten text, mostly illegible due to extreme fading. Some words like "The" and "and" are visible at the beginning of lines.

Handwritten text, mostly illegible due to extreme fading. Some words like "The" and "and" are visible at the beginning of lines.

Handwritten text at the top of the page, possibly a header or title.

Handwritten text at the bottom of the page, possibly a footer or concluding remarks.

Jül-2802

Juli 1993

ISSN 0944-2952