

UMWANDLUNGEN UND PHASENÜBERGÄNGE IN BIOLOGISCHEN SYSTEMEN

Thomas Heimburg

AG Thermodynamik von Membranen
Max-Planck-Institut für Biophysikalische
Chemie, Göttingen

Die wichtigsten Bausteine der biologische Zelle sind die Lipidmembranen, Proteine und Nukleinsäuren. Seit einer klassischen Arbeit von Gorter und Grendel (1925) ist bekannt, daß die Membran im wesentlichen aus zwei Monoschichten von Lipiden besteht. Die Grundlage des heutige akzeptierten Bildes einer biologischen Membran bildet das "fluid mosaic"-Modell von Singer und Nicolson (1972). In ihm ist die Lipidmembran eine zweidimensionale Struktur aus Lipiden, die ein strukturiertes "Lösungsmittel" für Membranproteine bildet. Die Prinzipien der Strukturbildung der Proteine ist durch die Arbeiten von Pauling und Corey (1948), die der Nukleinsäuren seit der epochalen Arbeit von Watson und Crick (1953) im wesentlichen verstanden. Sowohl die Membranen als auch Proteine und Nukleinsäuren zeigen temperaturabhängige Ordnungsumwandlungen. Ein besonderes Merkmal dieser Übergänge ist die Tatsache, daß die beteiligten Moleküle innere Freiheitsgrade durch Rotationen um Molekülachsen haben und die Ordnung innermolekular verloren geht. Da sowohl Membranen als auch Makromoleküle in eine wässri-

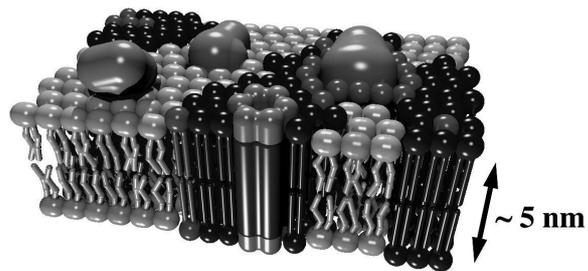


Abbildung 1: Schematisches Bild einer biologischen Membran, die aus einer Vielzahl von Lipiden und Proteinen aufgebaut ist. Die kleinen Moleküle sind Lipide mit unterschiedlicher Länge, Kopfgruppe oder physikalischem Zustand. Die größeren Einheiten sind schematische Darstellungen der Proteine, die entweder die Membran durchspannen oder auf ihrer Oberfläche adsorbiert sind.

ge Umgebung eingebettet sind, werden die Umwandlungen durch Umgebungsbedingungen empfindlich beeinflusst. Die Physik dieser Umwandlungen ist im allgemeinen komplex, kann aber in einigen Fällen mit Hilfe von einfachen Modellen beschrieben werden.

SACHVERHALT

Biologische Zellen sind die elementaren Einheiten lebender Organismen. Sie sind von einer Membran umgeben, die nicht nur die Zellgröße definiert, sondern auch die chemischen Potentiale der in ihnen enthaltenen Ionen und Moleküle. Die Membranen sind sehr dünn (ca. 5nm) verglichen mit typischen Zellgrößen von einigen μm (Abb.1). Im Inneren der Zelle befinden sich verschiedenste membranbegrenzte Organellen, darunter der Zellkern, die Mitochondrien und das endoplasmatische Retikulum.

Die zwei wichtigsten Komponenten biologi-

scher Membranen sind Lipide und Proteine. Lipide sind kleine Moleküle mit einer hydrophilen (wasserliebenden) Kopfgruppe und hydrophoben (wasserabweisenden) Kohlenwasserstoffketten. Aufgrund ihrer amphiphilen Natur lagern sie sich in wässriger Umgebung spontan zu Doppelschichten zusammen, die das Grundgerüst biologischer Membranen bilden. Kettenzusammensetzung und Kopfgruppen der Lipide sind in der Natur recht variabel, und damit die physikalischen Eigenschaften: Kopfgruppen können beispielsweise ungeladen, zwitterionisch (d.h. sie enthalten eine positive und eine negative Ladung) oder auch negativ geladen sein, während Lipidketten unterschiedliche Länge und verschiedene Zahl von Doppelbindungen (unterschiedlichen Sättigungsgrad) haben können (Cevc und Marsh, 1989; Sackmann, 1995).

Proteine sind lineare Polymere der Aminosäuren und besitzen ein Vielfaches der Lipidmasse (vgl. Abb.4). Es gibt 20 Aminosäuren, die sich durch organische Seitengruppen mit unterschiedlichen Ladungen, Polaritäten und Größen unterscheiden. Die lineare Anordnung der Aminosäuren bestimmt die räumliche Faltung des Polymers. Die dreidimensionale Struktur eines Proteins aufgrund der Aminosäuresequenz vorherzusagen ist eine der herausragenden, bislang ungelösten Fragestellungen der Biophysik. Proteine kommen sowohl in Membranen eingebaut, peripher adsorbiert oder in wässriger Lösung vor (Abb.1). Sie erfüllen verschiedenste Aufgaben in einem lebenden Organismus, die von Ionentransport durch

die Membran über Photonenabsorption bis hin zu der Katalyse chemischer Reaktionen reicht.

Sowohl Lipide als auch Proteine sind Makromoleküle mit einer großen Zahl von inneren Freiheitsgraden. Sie können daher bei Veränderung thermodynamischer Variablen (Temperatur, Druck, ...) Schmelzumwandlungen durchlaufen, die sich mit Konzepten beschreiben lassen, die ähnlich auch in der Festkörperphysik verwendet werden. Sie sind zudem Objekte, die sich in einer wässrigen Umgebung befinden. Membranen haben Freiheitsgrade in der dritte Dimension, die sich in ihrer Elastizität ausdrücken. Sowohl für Membranen als auch für Proteine ist die Wechselwirkung mit Wasser von Bedeutung. Bei Proteinen führt sie zu einem interessanten Phänomen, das 'kalte Denaturierung' genannt wird. Die kalte Denaturierung ist eine Ordnungsumwandlung, die durch Temperaturerniedrigung induziert wird (siehe unten).

Schmelzen von Lipidmembranen

Reine Lipide bilden in Wasser spontan Doppelschichten (Membranen) aus, die kooperative Schmelzumwandlungen zeigen. Beim Schmelzen bleibt die Integrität der Membran erhalten. Am Umwandlungspunkt zeigt nicht nur die Wärmekapazität ein Maximum, sondern auch die isotherme Kompressibilität, die Biege-Elastizität (Heimburg, 2000) sowie Permeabilität und Relaxationszeiten.

Bei tiefen Temperaturen besitzen Lipide geordnete 'all-trans' Ketten (das ist die lineare Anordnung der CH_2 -Gruppen der Lipidket-

ten) und sie organisieren sich in der Membranebene in hexagonalen Gittern. Oberhalb des Schmelzpunkts sind die Ketten ungeordnet und die hexagonale Organisation des Gitters geht verloren. Die Veränderung der Kettenordnung ist in Abb.2 wiedergegeben. Aus historischen Gründen wird die Phase unterhalb des Schmelzpunktes als 'Gel'-Phase und die Phase oberhalb des Schmelzpunktes als 'fluide' oder 'flüssig kristalline' Phase bezeichnet. Diese Begriffe sind etwas unscharf, da

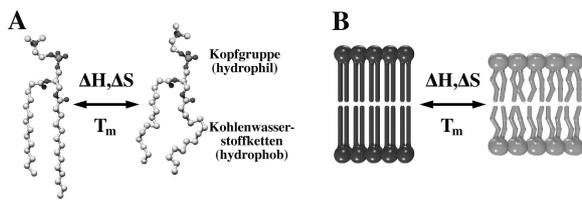


Abbildung 2: Membranen aus reinen Lipiden können schmelzen. Unterhalb des Schmelzpunktes sind die Lipidketten geordnet. Oberhalb des Schmelzpunktes sind sie ungeordnet. **A:** Veränderung der Kettenkonformation in der Umwandlung. **B:** Schematische Darstellung des Schmelzens einer Membran.

die physikalische Terminologie an Materialien geprägt wurde, deren Komponenten keine inneren Freiheitsgrade haben. In letzter Zeit werden deshalb auch die Begriffe 'festgeordnet' und 'flüssig-ungeordnet' verwendet, die in besserer Weise verdeutlichen, daß die Ordnung der Lipide sowohl innerhalb des Moleküls (geordnet - ungeordnet) als auch in der kristallinen Anordnung verlorengeht (fest - flüssig). In der Gegenwart von kristallbrechenden Molekülen wie z.B. Cholesterin kann deshalb auch prinzipiell eine 'flüssiggeordnete' Phase auftreten (Nielsen et al.,

1999). 'Fest-ungeordnete' Phasen sind nie beobachtet worden.

Bei der Umwandlung einer Lipidmembran verändern sich die Enthalpie der Lipide (um ca. 25 bis 40 kJ/mol), ihr Volumen (um ca. 4%), ihre Oberfläche (um ca. 25%) und die Entropie (um ca. 80 bis 130 J/mol · K). Da einige Lipide Ladungen tragen, verändert sich auch das elektrostatische Potential der Membran, das zudem von der Ionenkonzentration des wässrigen Mediums abhängt. Schmelztemperaturen biologischer Lipide liegen im Bereich von -20° bis $+60^{\circ}C$.

Der weitaus größte Teil der Umwandlungsentropie von Lipidmembranen rührt von dem Verlust der Kettenordnung her (Abb.2). Das einfachste Modell, das die Schmelzumwandlung recht gut beschreibt, ist das 'Ising'-Modell (nach dem Modell für den Ferromagnetismus von E.Ising, 1925). Für Lipidumwandlungen wurde es zuerst von S. Doniach (1978) verwendet. In einem solchen Modell wird in der Regel der Beitrag des intermolekularen Ordnungsverlustes vernachlässigt. Hierbei werden die vielen möglichen Orientierung-Zustände der Lipide zu zwei Spezies zusammengefaßt: Einem Zustand mit vollständig geordneten Lipidketten und einem hochentarteten Zustand mit ungeordneten Ketten, die auf einem hexagonalen Gittern angeordnet sind. Diese beiden Zustände entsprechen den Spins des Isingmodells. Zwischen diesen beiden Zuständen besteht ein Enthalpieunterschied ΔH und ein Entropieunterschied ΔS . Diese Größen lassen sich experimentell aus kalorimetrischen Schmelzprofilen bestimmen (Abb.3A).

Desweiteren werden Nächstnachbarwechselwirkungen eingeführt, die die Kooperativität der Umwandlung beschreiben (die Breite der Schmelzkurve). Diese Betrachtungen führen zu dem folgenden Ausdruck für die freie Enthalpie einer gegebenen Matrixkonfiguration.

$$\Delta G(n_f, n_{gf}) = n_f \cdot (\Delta H - T \cdot \Delta S) + n_{gf} \cdot \omega_{gf} \quad (1)$$

Hierbei ist n_f die Zahl der fluiden Moleküle und n_{gf} die Zahl der Kontakte zwischen gelförmigen und fluiden Molekülen. Mit Hilfe von statistisch thermodynamischen Computer-Simulationen (Monte-Carlo) kann man das statistische Gewicht jeder relevanten Konfiguration bestimmen, und damit auch die mittlere Enthalpie H und die Wärmekapazität c_p (Abb.3a). Die Domänenstruktur in der Nähe der Umwandlung (ein Ergebnis der Simulationen, Abb.3B) ist inzwischen auch experimentell beobachtet worden (Korlach et al., 1999; Nielsen et al., 2000). Formal

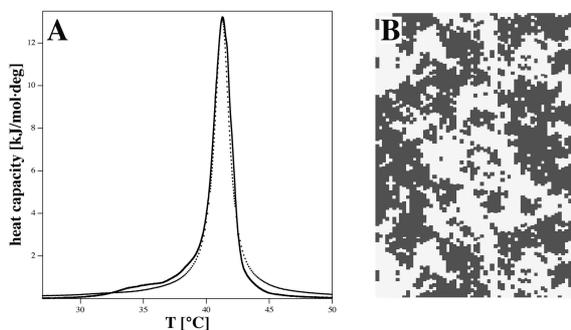


Abbildung 3: **A.** Typisches kalorimetrisches Schmelzprofil von einer Lipidumwandlung. Die gepunktete Linie deutet ein mit Hilfe eines Isingmodells simuliertes Profil an. **B.** Der repräsentative Monte-Carlo Schnappschuss am Schmelzpunkt der Membran zeigt das Ausbilden von Domänen.

spielt $(\Delta H - T \cdot \Delta S)$ die Rolle eines tem-

peraturabhängigen Feldes, das je nach Temperatur den einen oder den anderen Lipidzustand bevorzugt. Am Schmelzpunkt, T_m , ist das 'Feld' gleich Null und beide Lipidzustände sind gleich wahrscheinlich. Es gilt für den Schmelzpunkt

$$T_m = \frac{\Delta H}{\Delta S} \quad (2)$$

Ein zweidimensionales Ising-Modell in einem temperaturabhängigen Feld kann, abhängig von der Nächstnachbarwechselwirkung ω_{gf} zu Umwandlungen erster Ordnung führen. Es ist umstritten, ob Lipide tatsächlich Umwandlungen erster Ordnung zeigen. Man nimmt aber an, daß sich Lipidumwandlungen bei physiologischen Bedingungen im allgemeinen in der Nähe eines kritischen Punktes befinden. Da Membranen (und Proteine) immer eine endliche Größe besitzen (Lipidvesikel enthalten typischerweise 5000-100000 Lipide, Schmelzumwandlungen in Proteinen finden innerhalb eines einzelnen Moleküls statt), haben allerdings manche Konzepte der Thermodynamik (z.B. die Begriffe 'Phase' oder 'Ordnung der Umwandlung'), die für unendlich grosse Systeme definiert sind, nur eine eingeschränkte Relevanz.

Entfaltung von Proteinen

Proteine falten sich bei physiologischen Temperaturen zu kompakten, sogenannten nativen Strukturen. Ihre Abmessungen sind in der Größenordnung von 2-10nm. Man nimmt an, daß es für jedes Protein nur eine oder sehr wenige native Strukturen gibt, die einem Minimum der freien Enthalpie entsprechen, und die eine biologisch wichtige

Funktion besitzen.

Ein typisches Beispiel ist das Cytochrom C, ein Elektronentransport-Protein aus der Atmungskette der Mitochondrien (Abb.4). Dieses Protein ist reich an α -Helices. Diese

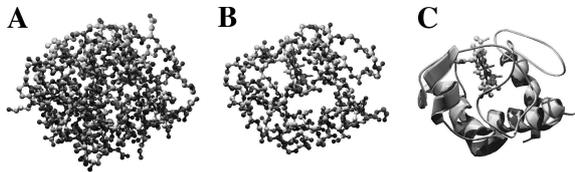


Abbildung 4: Cytochrom c ist ein wasserlösliches Hämprotein mit einem Durchmesser von ca. 3nm. In dieser Abbildung ist es in drei Repräsentationen wiedergegeben: **A:** Modell des Proteins inklusive aller Aminosäureseitengruppen. **B:** Darstellung des Proteinrückgrats alleine. **C:** In der Bänderdarstellung desselben Proteins erkennt man den hohen Anteil von α -Helices. In der Mitte ist eine eisenhaltige Hämgruppe zu erkennen.

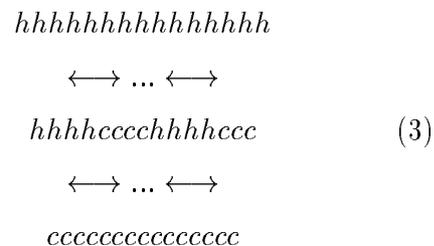
sogenannten Sekundärstrukturelemente werden durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert (Abb.5B). Dabei bildet sich eine Wasserstoffbrücke zwischen einer C=O Gruppe der i -ten Aminosäure und einer N-H Gruppe der $(i+4)$ -ten Aminosäure. Bei Erwärmung des Proteins geht bei der 'Denaturierung' die native Struktur verloren. Wie in Abb.5A erkennbar, gibt es im Proteinrückgrat jeder Aminosäure zwei Bindungen, um die herum Drehungen möglich sind. Die Winkel in dieser Bindung (ϕ und ψ) heißen 'Ramachandran'-Winkel (nach G.N. Ramachandran, 1963) und diese sind für jede Sekundärstruktur charakteristisch. Bei der Denaturierung nimmt die Konfigurationsentropie unter Verlust der inneren

Stabilisierung durch die Wasserstoffbrücken zu. Mit Ausnahme einiger thermostabiler Proteine liegen die Denaturierungstemperaturen üblicherweise knapp oberhalb der Körpertemperatur. Typische Entfaltungsenthalpien sind einige hundert kJ/mol, je nach Größe des Proteins. In Abb.6A ist das kalorimetrische Schmelzprofil von Cytochrom C zu sehen, dessen Schmelzpunkt bei 82°C liegt, mit einer Entfaltungsenthalpie von ca. 230 kJ/mol.

Eine solche Denaturierung läßt sich durch relativ einfach Betrachtungen näherungsweise beschreiben.

Helix-Coil Umwandlung

Um der Entfaltung von Proteinen näher zu kommen, kann man zunächst die Entfaltung einer Helix betrachten. Sie ist schematisch in Abb.5 wiedergegeben. Die Helix-Coil-Umwandlung wurde von Zimm & Bragg (1959) durch ein Modell beschreiben, das formal einem eindimensionalen Ising-Modell in einem temperaturabhängigen Feld gleicht. Man stelle sich die temperaturinduzierte Entfaltungsreaktion vor als eine Folge von Schritten von einer einzigen Helix zu Intermediaten mit entfalteten Coil-Segmenten und helikalen Abschnitten hin zu einem vollständig entfalteten Protein:



Hier stehen die Kürzel 'h' für helikale Elemente einer Aminosäuresequenz und die Elemente 'c' für ungefaltete Coil-Elemente und entsprechen den Spins im Ising-Modell. Dabei trägt jedes helikale Element mit $\Delta G = \Delta H(1 - T/T_m)$ zur freien Enthalpie der Kette bei. ΔG ist temperaturabhängig und verschwindet am Schmelzpunkt T_m . Zudem wird angenommen, daß immer dann, wenn ein helikales Element auf ein Coil-Element folgt, ein Keimbildungsschritt für den Beginn einer neuen Helix erfolgt, der mit einer Keimbildungsentropie $\Delta S_{nucl} < 0$ versehen ist. Für die intermediäre Struktur in (3) hat man beispielsweise acht helikale und 7 Coil-Segmente und es finden 2 Keimbildungsschritte für eine Helix statt. In der Nähe der Denaturierung gibt es viele unterschiedliche Konformationen. Das statistisch thermodynamische Problem ist analytisch lösbar. Zimm & Bragg bestimmten für den Anteil θ helikaler Elementen

$$\theta(T) = \frac{K}{2 \cdot \lambda} \cdot \left(1 + \frac{[(K-1) + 2 \cdot \sigma]}{[(1-K)^2 + 4\sigma \cdot K]^{0.5}} \right) \quad (4)$$

wobei $K = \exp(-\Delta G/kT)$, $\sigma = \exp(-(\Delta S_{nucl})/k)$ und $\lambda = 0.5 \cdot (1 + K) + 0.5 \cdot [(1-K)^2 + 4\sigma \cdot K]^{0.5}$. Für eine vollständig gefaltete Helix bei tiefen Temperaturen gilt $\theta = 1$, und für eine vollständig entfaltete Aminosäurekette bei hohen Temperaturen ist $\theta = 0$. Am Schmelzpunkt gilt $K = 1$ und $\theta = 0.5$, d.h. 50% der Helix sind entfaltet.

Außer α -helikalen Segmenten kommen in Proteinen noch andere Sekundärstrukturelemente vor, z.B. die β -Faltblatt-

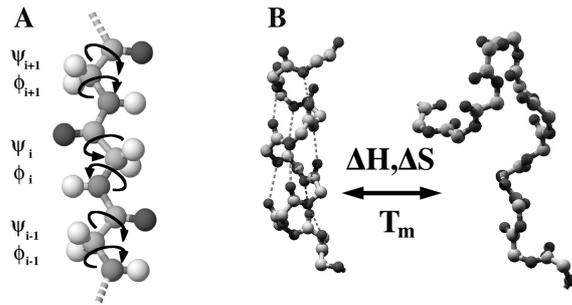


Abbildung 5: Darstellung der Entfaltung eines Proteins. **A:** In jeder Aminosäure gibt es zwei (Ramachandran-) Winkel, ϕ und ψ , um die die Molekülgruppen rotieren können. **B:** Eine α -Helix wird durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert (gepunktete Linien). Durch Drehen um die Ramachandran-Winkel wird die Helix entfaltet. Dabei werden die Wasserstoff-Brücken gebrochen.

Struktur, die sich durch andere typische Ramachandran-Winkel auszeichnet und ein anderes Wasserstoffbrücken-Muster aufweist. Die drei-dimensionale Anordnung von Sekundärstrukturelementen wird Tertiärstruktur genannt. Die Entfaltung eines Proteins mit einer komplexen Tertiärstruktur ist in der Regel noch einfacher zu beschreiben als die Helix-Coil-Umwandlung. Es ist eine experimentelle Beobachtung, daß viele Proteine ohne Intermediate in einem einzigen Schritt entfalten. Die Entfaltungsreaktion läßt sich dann durch die einfache Form

$$\frac{[P_{den}]}{[P_{nat}]} = \exp\left(-\frac{\Delta H(1 - T/T_m)}{kT}\right) \quad (5)$$

beschreiben, wobei $[P_{den}]$ die Konzentration des denaturierten Proteins und $[P_{nat}]$ die Konzentration des nativen Proteins ist. Wenn Proteine in mehreren Schritten entfalten, kann man dies durch eine Dekonvolution

der kalorimetrischen Denaturierungsprofile analysieren (Freire & Biltonen, 1978).

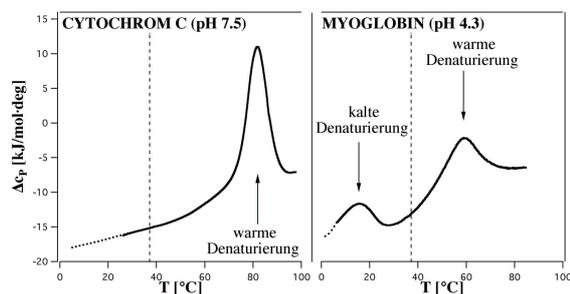


Abbildung 6: Entfaltungsp Profile von Proteinen. **A:** Entfaltung von Cytochrom C bei pH 7.5. **B:** Entfaltung von Myoglobin bei pH 4.3. Hier erkennt man zwei Umwandlungspeaks: Die warme Denaturierung bei hohen Temperaturen und die kalte Denaturierung bei tiefen Temperaturen. Die gepunktete senkrechte Linie gibt die Körpertemperatur wieder.

Kalte Denaturierung

Eine wichtige Rolle bei der Proteinfaltung spielen die Seitengruppen der Aminosäuren. Die Faltung erfolgt auf eine Weise, die es dem Protein erlaubt, hydrophobe Aminosäuren innen, polare und geladene Gruppen jedoch außen anzuordnen. Bei der Entfaltung können hydrophobe Aminosäureseitentgruppen der wässrigen Umgebung ausgesetzt werden. Aus diesem Grund ist die Grenzflächenenergie zwischen hydrophoben Gruppen und Wasser von Bedeutung, die beim Entfalten der Proteine entsteht. Es ist bekannt, daß der 'hydrophobe Effekt' (d.h. Enthalpie und Entropie der Grenzfläche zwischen unpolaren Molekülen und Wasser) sehr temperaturabhängig ist (Tanford, 1980). Dies führt zu dem interessanten Phänomen,

daß die Entfaltung bei manchen Proteinen auch durch Temperaturerniedrigung ausgelöst werden kann. Dies ist die 'kalte Denaturierung' (Privalov, 1990). In der Gegenwart geladener Aminosäureseitengruppen sind warme und kalte Denaturierung pH-abhängig. Bei Myoglobin kann man die kalte Denaturierung besonders gut erkennen, wenn der pH bei ca. 4.3 liegt (Abb.6B). In Abb.6 wird die Körpertemperatur als senkrecht gestrichelte Linie gezeigt. Es fällt auf, daß sie genau zwischen warmer und kalter Denaturierung liegt.

Entfaltung von DNA

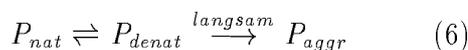
Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß auch die Erbsubstanz des Menschen, die DNS, denaturieren kann. Die DNS ist ein Polymer der Desoxyribonukleinsäuren. Zwei komplementäre Nukleinsäurestränge bilden einen binären Komplex, der durch Erhöhen der Temperatur in Einzelstränge unter Zunahme der Konformationsentropie dissoziiert.

ANWENDUNGEN

Die Bedeutung von Umwandlungen in der Biologie ist bislang nicht eindeutig geklärt. Biologische Systeme scheinen sich in der Regel in Temperaturbereichen aufzuhalten, bei denen keine Umwandlungsereignisse stattfinden. Andererseits sind die Umwandlungen, sowohl in Lipiden als auch in Proteinen, zumeist in direkter Nachbarschaft physiologischer Temperaturen und es ist anzunehmen, daß über die Kontrolle der thermodynamischen Randbedingungen (pH, Ionenstärke,

Temperatur) Umwandlungen eine Bedeutung für die Funktion von Zellen haben. Es ist möglich, daß biologische Systeme versuchen, die Umwandlungen ihrer Komponenten dahingehend zu optimieren, daß sie leicht auf äussere Reize reagieren können.

Die warme Denaturierung ist im Gegensatz zur kalten Denaturierung meist nicht reversibel. Das liegt daran, daß auf das Gleichgewicht zwischen gefaltetem, nativen Protein zum entfalteten, denaturiertem Protein eine Reaktion mit langsamer Kinetik folgt, bei der die denaturierten Proteine zu Komplexen aggregieren:



Obleich das erste Gleichgewicht reversibel ist und mit den Gesetzen der Thermodynamik beschrieben werden kann, ist der langsame kinetische Schritt auf üblichen experimentellen Zeitskalen nicht umkehrbar. Aus diesem Grund kann Erwärmung zur Zerstörung von Proteinen z.B. beim Kochen oder bei der Desinfektion verwendet werden.

Die Denaturierung der DNA spielt eine Rolle bei der Replikation des Erbgutes und wird technisch zur Vervielfältigung genetischer Information bei der Polymerase-Kettenreaktion verwendet (Mullis et al., 1994).

Sphärische Lipidmembranen (Vesikel) werden in vielfältiger Form in der kosmetischen Industrie eingesetzt. Dabei werden Wirkstoffe in 'Liposomen' eingeschlossen. Dieses Verfahren wird auch zum Transport von medizinischen Wirkstoffen in der The-

rapie zu verwenden (z.B. Eibl und Kolle, 1995). Da Lipidvesikel ihre Eigenschaften als Funktion der Randbedingungen verändern, hofft man, Wirkstoffe gezielt in bestimmten Organen freizusetzen, damit sie ausschließlich dort ihre Wirkung entfalten. In Umwandlungsbereichen sind Vesikel permeabler für Wirkstoffe. Das öffnet beispielsweise Möglichkeiten für eine wärme kontrollierte Freisetzung von Medikamenten. Es wird auch versucht, mit Hilfe von Liposomen speziell manipuliertes Erbmateriale zu gentherapeutischen Zwecken in Zellen einzuschleusen (Lasic, 1997).

Literatur

- Cevc, G., und D. Marsh. 1989. Phospholipid Bilayers: Physical Principles and Models. Wiley, New York.
- Doniach, S. 1978. Thermodynamic fluctuations in phospholipid bilayers. *J. Chem. Phys.* 68 : 4912-4916.
- Eibl, H. und Kaufmann-Kolle, P. 1995. Medical applications of synthetic phospholipids as liposomes and drugs. *J. Liposome Res.* 5 : 131-148.
- Freire, E., und R. L. Biltonen. 1978. Statistical Mechanical Deconvolution of Thermal Transitions in Macromolecules. I. Theory and Application to Homogeneous Systems. *Biopolymers* 17 : 463-479.
- Gorter, E. und Grendel, F. (1925). On biomolecular layers of lipid on the chromocytes of the blood. *J. Exp. Med.* 41 : 439-443.
- Heimburg, T. 2000. Monte Carlo simulations of lipid bilayers and lipid protein interactions

- in the light of recent experiment. *Curr. Opin. Coll. Interface Sci.* 5 : 224-231.
- Korlach, J., Schwille, P., Webb W. W., und Feigenson GW. 1999. Characterization of lipid bilayer phases by confocal microscopy and fluorescence correlation spectroscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 : 8461.
- Lasic, D. D. 1997. *Liposomes in gene delivery*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Mullis, K. B., Ferre, F., Richard A. Gibbs, R. A. (Hrsg.) 1994. *The Polymerase Chain Reaction*. Birkhäuser, Boston.
- Nielsen, M., L. Miao, J. H. Ipsen, O. G. Mouritsen, und M. J. Zuckermann. 1999. Random-lattice models and simulation algorithms for the phase equilibria in two-dimensional condensed systems of particles with coupled internal and translational degrees of freedom. *Phys. Rev. E* 54 : 6889-6905.
- Nielsen, L. K., Bjornholm, T. und Mouritsen, O.G. 2000. Critical phenomena - Fluctuations caught in the act. *Nature* 404 : 352.
- Ramachandran, G. N., C. Ramakrishnan, und V. Sasisekharan 1990. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *J. Mol. Biol.* 7 : 95.
- Pauling, L. und R. B. Corey (1950), Two Hydrogen-Bonded Spiral Configurations of the Polypeptide Chain. *J. Am. Chem. Soc.* 72 : 5349.
- Privalov, P. L. 1990. Cold denaturation of proteins. *Crit.Rev.Biochem.Mol.Biol.* 25 : 281-305.
- Sackmann, E. 1995. Physical basis of self-organization and function of membranes: Physics of vesicles. in: *Structure and Dynamics of Membranes: From Cells to Vesicles*. Herausgeber: E. Sackmann und R. Lipowsky, *Elsevier*, Amsterdam.
- Singer, S. J. und Nicolson, G. L. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175 : 720-731.
- Tanford, C. 1980. *The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membranes*. Wiley, New York.
- Watson, J. D. und Crick, F.H.C. 1953. Molecular structure of deoxyribose nucleic acids *Nature* 171 : 737-738.
- Zimm, B. H., und J. K. Bragg. 1959. Theory of the phase transition between helix and random coil polypeptide chains. *J. Chem. Phys.* 31 : 526-535.