

## Active gels *in vivo*: Patterns and dynamics in cytokinetic rings and their functions in cell division

### Zusammenfassung

Die Zellteilung ist eines der grundlegendsten Ereignisse für eine Zelle. Einzeller vermehren sich durch Zellteilung und multizelluläre Organismen wachsen und erneuern sich durch diesen Mechanismus. Nachdem die Chromosomen getrennt sind, bildet sich ein Ring aus Aktin, Myosin und anderen Proteinen, der die Zelle teilt. Bemerkenswerterweise ist dieser Mechanismus zwischen Fungi, Amöben und Tierzellen erhalten.

Strukturen aus Aktin und Myosin, oder, allgemein gesagt, Filamenten und Motoren, sind nicht nur relevant für die Zellteilung, sondern auch für Zellen im Allgemeinen, sei es für die interne Organisation, sei es für das "Ertasten" ihrer Umgebung, oder sei es für das kollektive Verhalten in Gewebe und in der Embryogenese. Netzwerke aus dynamischen Filamenten und aktiven Motoren werden auch als *aktive Gele* bezeichnet, da es sich um Systeme außerhalb des Gleichgewichts handelt. Daher ist es nicht nur eine wichtige Zellstruktur, sondern auch eine neue Art von Material. Eine Vielzahl an theoretischen und experimentellen Arbeiten wurde auf diesem Feld durchgeführt.

Es ist eine Herausforderung, diese Gele *in vivo* zu studieren, da viele Proteine und Zellsignale in die Organisation dieser Gele involviert sind. Aufgrund seiner ringförmigen Geometrie ist der zytokinetic Ring ein relativ übersichtliches aktives Gel *in vivo*. Zudem sind seine Komponenten gut beschrieben. Es ist jedoch immer noch nicht klar, warum sich der Ring zusammenzieht und wie Spannung in diesem System erzeugt wird. Durch das Beantworten dieser Fragen hoffen wir, generell zum Verständnis von aktiven Gel-Strukturen beitragen zu können.

Basierend auf einer existierenden Methode, erfunden von Daniel Riveline, haben wir eine experimentelle Konfiguration und ein Protokoll entwickelt, um die Zytokinese in Säugetierzellen zu untersuchen. Genauer gesagt haben wir den Zytokinetischenring mit Hilfe eines speziellen Chips mit regelmäßigen Mikrovertiefungen untersucht, die es erlauben, die Zellen zu orientieren und den Ring in einer einzigen Ebene zu fokussieren. Wir haben den Ring durch das Markieren von Aktinfilamenten, Myosin und anderer Proteinen mit Fluoreszenzmarkern visualisiert. Wir arbeiten mit zwei Zelltypen: Säugetierzellen und Spalthefen. Unser experimenteller Aufbau erlaubt es uns, Muster und Dynamiken in beiden Systemen zu visualisieren, charakterisieren und zu vergleichen.

Interessanterweise sehen wir in Säugetierzellen Strukturen im zytokinetischen Ring: Myosin und Formin bilden ein Muster aus regelmäßigen Häufungen. Diese Muster zeigen globale Dynamiken, wie kollektive Rotationen oder lokale wie Fusion und Teilung von einzelnen Anhäufungen. Jedoch zeigt unsere Charakterisierung des Musters, dass seine Eigenschaften im Wesentlichen konstant bleiben während der Teilung. Das deutet darauf hin, dass es sich um inhärente Eigenschaften des Rings handelt. Interessanterweise ist das Muster nicht gestört nach Laserablation des Ringes. Die Teilungsfurche zieht sich auch weiterhin zusammen. Das zeigt, dass die Kontraktilität eine lokale Eigenschaft ist. Wir beobachten ebenfalls eine inhomogene Verteilung von Anillin und Septin im Ring, jedoch keine systematische Kolo-kalisierung mit Myosinanhäufungen. Weiterhin können wir zeigen, dass Substanzen, die das Zytoskelett inhibieren das Muster zerstören. Insbesondere sehen wir, dass das Muster unregelmäßiger wird. Bemerkenswerterweise bildet sich dieses Muster aus, wenn der Ring anfängt sich, zu schließen. Das deutet darauf hin, dass die Musterentstehung mit der Spannungserzeugung in Verbindung steht. Das Modell und die Berechnungen von Karsten Kruse und Anne Wald unterstützen diese Interpretation. Unser Modell beruht auf einfachen Annahmen bezüglich der Zusammensetzung des Rings. Es zeigt, dass sich ein solches Muster aus regelmäßig angeordneten Motoren, Filament und Nukleatoren formt, wenn die Motoraktivität einen Schwellenwert überschreitet. Wir demonstrieren weiterhin, dass dieses Muster zu einer erhöhten Spannung führt, die der Anordnung der Filamente geschuldet ist. Wir schlagen daher vor, dass die Ringbestandteile sich zu einem regelmäßigen Muster anordnen und dass diese Musterbildung ein Schlüssel zur Spannungserzeugung im zytokinetischen Ring ist.

In Hefezellen finden wir ebenfalls Inhomogenitäten in der Verteilung von Aktin, Myosin, zellwandbildenden Proteinen (Bgs) und weitere Proteinen. Aber im Gegensatz zu unseren Ergebnissen zu Säugetierzellen rotieren diese Inhomogenitäten im Ring. Diese Rotation tritt auch dann auf, wenn die Zellwand nicht gebildet wird und sich der Ring nicht schließt. Das weist darauf hin, dass es sich bei der Rotation um eine inhärente Eigenschaft des Rings handelt. Inhibition der Rotation von Myosininhomogenitäten führt zum Anhalten der Zellteilung, was auf eine Verbindung zwischen den Rotationen und der Ringschließung hindeutet. François Nédélec und Eszter Lakatos haben vorgeschlagen, dass der Ring sich schließt, weil Zytoskelettbestandteile die Rotation der zellwandbildenden Maschinerie antreiben. Rotationen erlauben es, die Wand gegen den Turgordruck aufzubauen. Wir implementieren den Ring mit einem minimalen Satz von Bestandteilen und können damit die Rotationen und die Schließung des Rings *in silico* reproduzieren. Weiterhin schlagen wir vor, dass eine zusätzliche Funktion der Rotationen sein könnte, dass sie den Ring stabiler machen. Tatsächlich zeigen unsere Laserablationsexperimente, dass der Ring sich innerhalb von wenigen Sekunden nach der Ablation repariert.

In beiden Systemen haben wir mesoskopische Strukturen im aktiven Gel gefunden. Wir charakterisierten die Muster und Dynamiken und maßen wie sie sich unter verschiedenen Bedingungen ändern. Unsere Beobachtungen und Messungen führten uns zu zwei Modellen, die die Spannungserzeugung und die Ringschließung in den jeweiligen Systemen erklären. Es ist überraschend, dass zwei Aktomyosin Ringe unterschiedliche Dynamiken aufweisen können. Zukünftige Experimente werden darauf abzielen zu verstehen, welche Systemparameter entweder zu ruhenden oder rotierenden Inhomogenitäten führen. Wir schlagen vor, dass der Übergang von Zuständen von unterschiedlicher Struktur oder Dynamik ein Weg sein könnten, Aktomyosin-Systeme *in vivo* zu regulieren, zusätzlich zu traditionellen Signalwegen.