

AZ ÉLŐ SEJT FIZIKAI BIOLÓGIÁJA: DIFFÚZIÓ, POLIMERIZÁCIÓ, REPTÁCIÓ

KELLERMAYER MIKLÓS

TEMATIKA

- Diffúzió, diffúzió-vezérelt folyamatok
- Biopolimérek dinamikája. Polimerizáció, depolimerizáció
- Polimérek diffúziója. Reptáció. Folyamatok és egyensúlyok a citoplazma sűrűjében.
- Bemutatók: epifluoreszcencia mikroszkóp, aktin-filamentum diffúzió, reptáció.

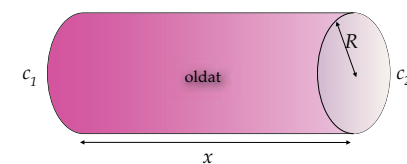
TERMODINAMIKAI ÁRAMOK

- A természeti folyamatok ritkán reverzibilisek.
- Ha a rendszer különböző pontjain különbségek vannak az intenzív mennyiségekben, áramok (termodinamikai áramok) lépnek fel.
- A termodinamikai áramok az egyensúly helyreállítására irányulnak.

Termodinamikai áram	Áramot fenntartó intenzív mennyiség-különbség	Áramsűrűség	Törvény
Hőáram	Hőmérséklet (T)	$J_E = -\lambda \frac{\Delta T}{\Delta x}$	Fourier
Térfogati áram	Nyomás (p)	$J_V = -\frac{R^2}{8\eta} \frac{\Delta p}{\Delta x}$	Hagen-Poiseuille
Elektromos áram	Elektromos potenciál (ϕ)	$J_Q = -\frac{1}{\rho} \frac{\Delta \phi}{\Delta x}$	Ohm
Anyagáram (diffúzió)	Kémiai potenciál (μ)	$J_n = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$	Fick

ANYAGÁRAM (DIFFÚZIÓ)

Termodinamikai áram	Áramot fenntartó intenzív mennyiség-különbség	Áramsűrűség	Törvény
Anyagáram (diffúzió)	Kémiai potenciál (μ)	$J_n = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$	Fick

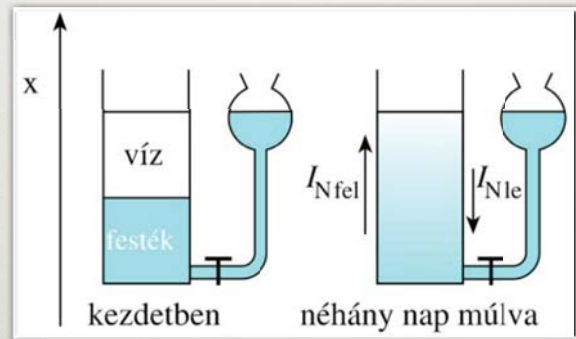


m = anyagmennyiség
 t = idő
 R = sugár
 x = hossz
($\Delta c/\Delta x$ = koncentrációgrádiens, fenntartója c_1-c_2)
 A = cső-keresztmetszet
 J_n = anyagáram
 D = diffúziós állandó

$$\frac{m}{tA} = J_n = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

DIFFÚZIÓ

- Részecskék hőmozgása révén létrejövő spontán elkeveredés, koncentráció-kiegyenlítődés.



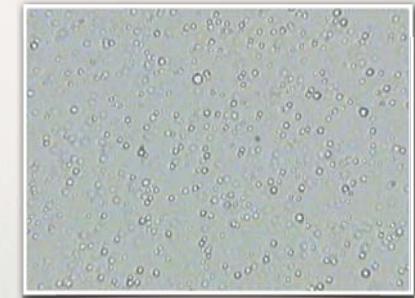
$$x^2 = 2Dt$$

x = határfelület által megtett "elmozdulás" (valójában a határfelület "elkenődése")
 t = idő
 D = állandó ("diffúziós együttható")

A diffúzió mikroszkópikus manifesztációja: Brown-mozgás

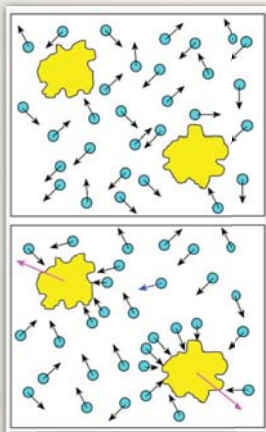


Robert Brown
(1773-1858)

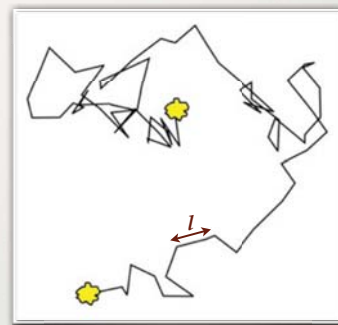


Tejben szuszpendált zsírcseppek (csepp méret 0.5 - 3 μm)

Brown-mozgás



A mikroszkópikus részecske mozgása a molekulákkal való véletlenszerű ütközések következménye.



l = átlagos szabad úthosz (egymást követő ütközések közötti átlagos távolság)
 v = a termikus mozgást végző részecske átlagos sebessége

DIFFÚZIÓ

- Fick I. törvénye: anyagáram-sűrűség a kiváltó koncentrációesés és diffúziós állandó szorzata

Anyagáram: $J_n = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$

J_n = anyagáram
 $\Delta c / \Delta x$ = koncentrációesés ("grádiens")
 D = állandó ("diffúziós együttható")

Diffúziós állandó: $D = \frac{1}{3} vl$

v = részecske átlagsebessége
 l = átlagos szabad úthossz (ütközések közötti átlagos távolság)
 D = egységnyi idő alatt egységnyi felületen átdiffundált anyag mennyisége (m^2/s) (egységnyi koncentrációesés mellett).



Brown-mozgás

Diffúziós állandó gömb alakú részecskére: $D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$

Einstein-Stokes összefüggés:
 k_B = Boltzmann-állandó
 T = abszolút hőmérséklet
 η = oldat viszkozitása
 r = részecske sugara

DIFFÚZIÓ

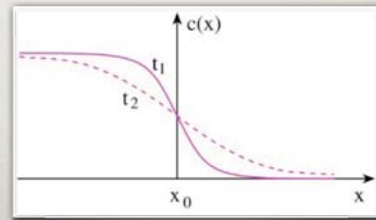
- Fick II. törvénye: anyagáram-sűrűség a kiváltó koncentrációesés időbeli változásának figyelembe vételével.

Anyagáram:
$$- \frac{\Delta J_n}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t}$$

Diffúziós állandó:
$$D \frac{\Delta \left(\frac{\Delta c}{\Delta x} \right)}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t}$$

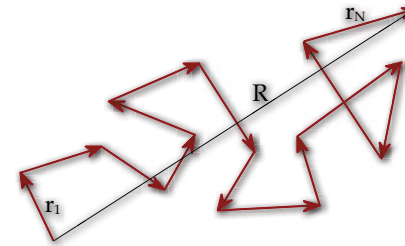
J_n = anyagáram
 x = távolság
 t = idő
 D = diffúziós együttható.

A koncentrációesés idővel csökken (a határfelület "elkenődik")



A DIFFÚZIÓ ÉS BOLYONGÓ MOZGÁS KAPCSOLATA

Brown-mozgás - "random walk"



"Négyzetgyök törvény":

$$\langle R^2 \rangle = Nl^2 = Ll$$

R = elmozdulás
 N = elemi lépések száma
 $l = |\vec{r}_i|$ = átlagos szabad úthossz
 r_i = elemi lépés
 $Nl = L$ = teljes út

Átlagos részecske sebesség: $v = \frac{l}{\tau}$

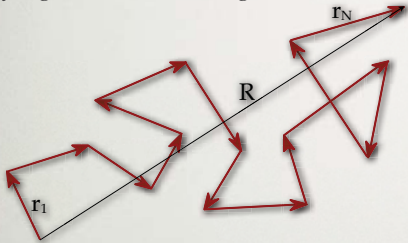
Teljes bolyongási idő: $t = N\tau$

Diffúziós együttható: $D = \frac{1}{3}vl$

$$\langle R \rangle = \sqrt{Nl^2} = \sqrt{\frac{t}{\tau}l^2} = \sqrt{tvl} = \sqrt{3Dt}$$

A POLIMÉREK ALAKJA A BOLYONGÓ MOZGÁSRA EMLÉKEZTET

Bolyongó (Brown-féle) mozgás ("random walk")



"Négyzetgyök törvény": $\langle R^2 \rangle = Nl^2 = Ll$

R = vég-vég távolság; r_i = elemi vektor; N = elemi vektorok száma; $l = |\vec{r}_i|$ = korrelációs hossz ("perzisztenciahossz", hajlítómerevség mértéke); $Nl = L$ = kontúrhossz

Bolyongó (diffúzióvezérelt) mozgás esetén R =elmozdulás, N = elemi lépések száma, L =teljes megtett út, és l =átlagos szabad úthossz.

Makroszkópikus folyamat esetén: $\langle \Delta x^2 \rangle = 2D\tau$.
 $\langle \Delta x^2 \rangle$ = átlagos négyzetes elmozdulás, D = diffúziós állandó, τ = diffúziós idő (megfigyelés időtartama)

Az elemi vektorok orientációs rendezetlenségére törekvése **rugalmasságot** eredményez

Entropikus rugalmasság:

Termikus gerjesztésre a polimerlánc random, ide-oda hajló fluktuációkat végez.

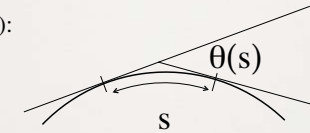
Nő a lánc konformációs entrópiája (elemi vektorok orientációs rendezetlensége).

Az entrópiamaximumra törekvés miatt a polimerlánc rövidül.



FÉREGSZERŰ POLIMERMODELL (WORMLIKE CHAIN)

WLC (wormlike chain):



ha s elég nagy, $\langle \cos\theta(s) \rangle$ s függvényében lecseng: $\langle \cos\theta(s) \rangle = \exp\left(-\frac{s}{l_p}\right)$
 l_p =perzisztencia hossz

ha $s \ll l_p$, akkor $\langle \cos\theta(s) \rangle \sim 1$, és a $\theta(s)$ szög 0 körül fluktuál.

Ha $s \gg l_p$, akkor $\langle \cos\theta(s) \rangle \sim 0$,

azaz $\theta(s)$ 0° és 360° közötti értékeket ugyanolyan valószínűséggel vehet fel.

A perzisztencia hossz értelme:

az a hossz, amelyen belül a lánc megtartja irányát (emlékszik rá).

A perzisztencia hosszon túl a lánc elfelejti irányítottságát.

$$l_p = \frac{EI}{k_B T}$$

EI = hajlítómerevség (E = Young modulus - anyagfüggő, I = keresztmetszet másodrendű nyomatéka - alakfüggő); $k_B T$ = termikus energia

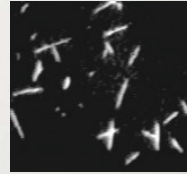
Értelme: minél merevebb egy lánc, annál nagyobb távolságon (l_p) lesznek csak észlelhetők a termikusan gerjesztett fluktuációk.

A GLOBÁLIS ALAK ÉS RUGALMASSÁG KÖZÖTT ÖSSZEFÜGGÉS VAN

l = perzisztencia hossz (hajlítómerevséget jellemzi)
 L = kontúrhossz

Merev lánc
 $l \gg L$

Mikrotubulus



Szemiflexibilis lánc
 $l \sim L$

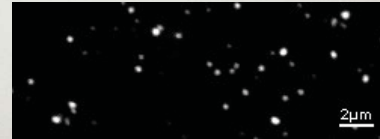
Aktin filamentum



Flexibilis lánc
 $l \ll L$

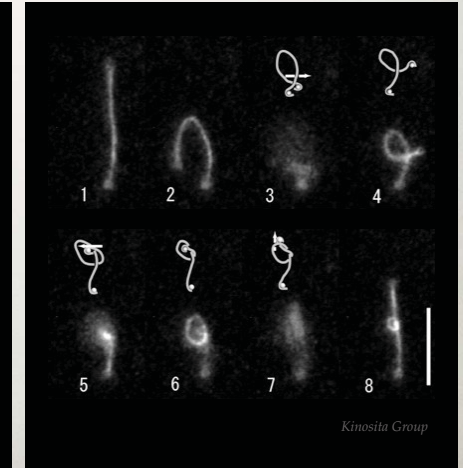
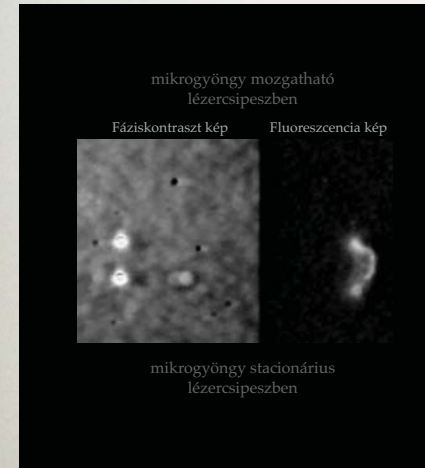


DNS molekula



ENTROPIKUS RUGALMASSÁG VIZUALIZÁLÁSA

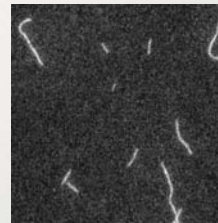
CSOMÓKÖTÉS EGYETLEN DNS LÁNCRÁ



A DIFFÚZIÓ SPECIÁLIS ESETE: REPTÁCIÓ

- Reptáció: polimér hálóban történő "kígyószerű" diffúzió. (Reptilia: hüllők)

polimér mátrix:
 "entanglement"
 (összegabalyodás)



Actin filamentumok metil-cellulóz mátrixban.
 "Egyenirányított diffúzió"

$$\tau_r = \frac{L^2 \cdot N}{\mu \cdot k \cdot T}$$

τ_r = Reptációs idő, egy kontúrhossznyi távolság megtételéhez szükséges idő;
 L = kontúrhossz; N = elemi szegmensek száma; μ = lánc mozgékonyosság; kT = termikus energia

$$D_r = \frac{(a \cdot \sqrt{N})^2}{\tau_r}$$

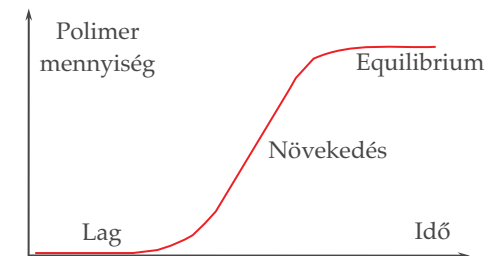
D_r = Reptációs diffúziós állandó;
 N = elemi szegmensek száma; a = elemi szegmens hossz (~perzisztenciahossz);
 τ_r = reptációs idő.
 N.B.: számlálók az átlagos négyzetes elmozdulással analóg.

Polimerizáció

Alegységek összeállításának folyamata

A polimerizáció fázisai:

1. Lag fázis: nukleáció
2. Növekedés fázisa
3. Equilibrium (egyensúly) fázisa

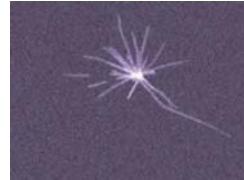


Polimerizációs egyensúlyok

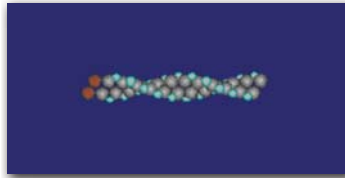
1. valódi egyensúly



2. dinamikus instabilitás: folyamatos, lassú növekedést követő katasztrofikus depolimerizáció

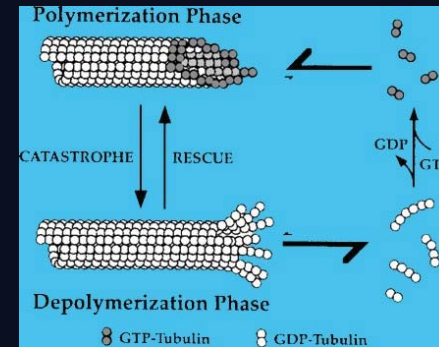


3. Treadmilling: taposómalom



Dinamikus instabilitás

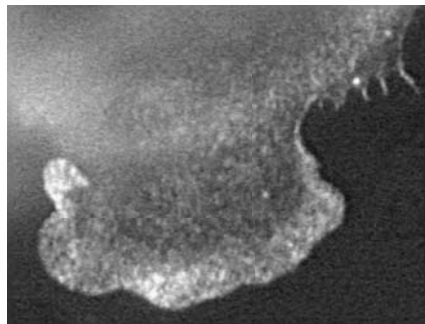
Mikrotubulusok



**CHO Cytoplasm
with
Centrosome**

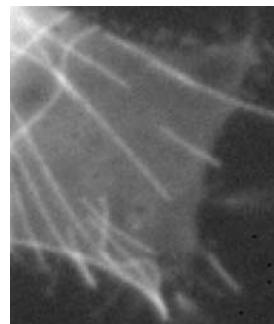
Gary Borisy

In vivo treadmilling



Aktin

GFP-aktin Speckle microscope
Clare Waterman-Storer

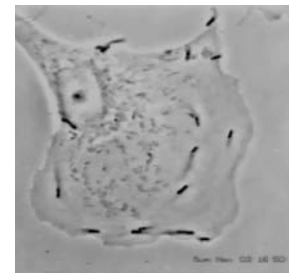


Microtubulusok

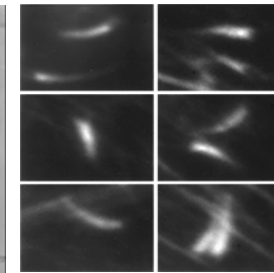
Gary Borisy

Motilitás aktin polimerizációval

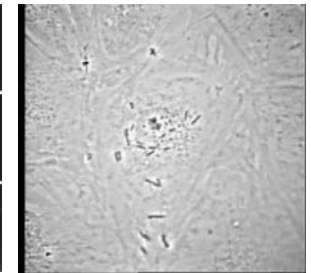
Intracelluláris patogének mozgása



Listeria monocytogenes

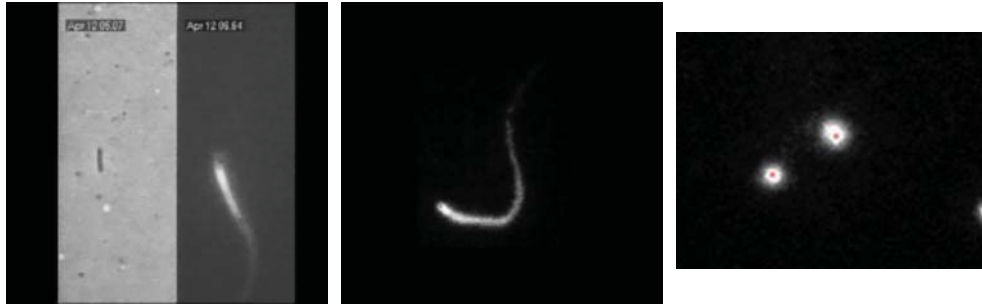


F-aktin jelölés phalloidinnel



Shigella flexneri

Motilitás aktin polimerizációval In vitro körülmények



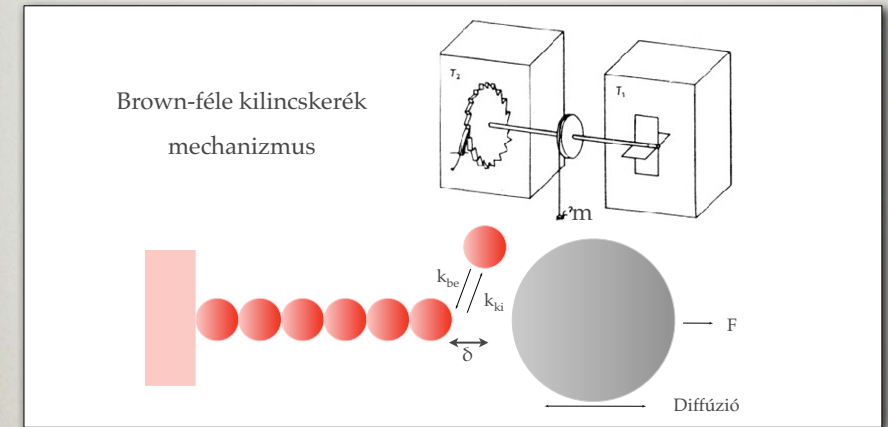
Listeria Xenopus extraktumban

ActA-val aszimmetrikusan bevont
mikrogyöngy *Xenopus* extraktumban

ActA-val szimmetrikusan bevont
mikrogyöngy *Xenopus* extraktumban

ActA: A protein expressed by the bacterium *Listeria monocytogenes* that is responsible for the "rocketing" motility of the bacterium throughout the eukaryotic host cell. In addition to other host proteins, ActA binds actin directly.

Erőkifejtés citoszkeletális filamentum polimerizációjával



$$K(F) = K_c e^{\frac{F\delta}{k_B T}}$$

$K(F)$ = erő jelenlétében fennálló disszociációs állandó - az a monomer koncentráció, amelynél a nettó filamentum növekedés 0.

K_c = kritikus koncentráció (0 erőnél); F = erő; δ = diszkrét növekedés egyetlen monomer beépülésekor. $k_B T$ = termikus energia.

N.B.: F lehet + vagy -. A folyamat lehet *reakcióvezérelt* (a k_{be} -hez képest túl gyors diffúzió) vagy *diffúzióvezérelt* (a k_{be} -hez képest lassú diffúzió).