

BIOFIZIKA

Egészségügyi Mérnök MSc

A tárgy felelős előadója: Dr. Fidy Judit egyetemi tanár
judit.fidy@eok.sote.hu
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

Két aspektus

1. „Molekuláris biofizika”

molekulaszerkezetek és *fizikai megközelítések*

2. „Biológiai anyagtan”

fizikai módszerek és paraméterek a speciális biológiai rendszerek leírására, jellemzésére

Részletes tematika

<http://biofiz.sote.hu>

Előadások

szerdánként, Beznák terem, 8.00-9.30

Gyakorlatok

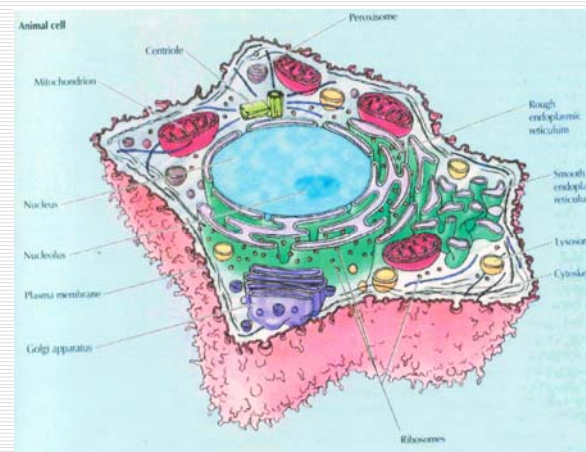
szerdánként, Biofizikai Int. gyakorló
helyiségei I. em. 9.40-11.10

Felelős: Hajdú Angéla

hajdu.angela@med.semmelweis-univ.hu

A molekuláris szerkezetet alakító kölcsönhatások és funkcionális jelentőségük.

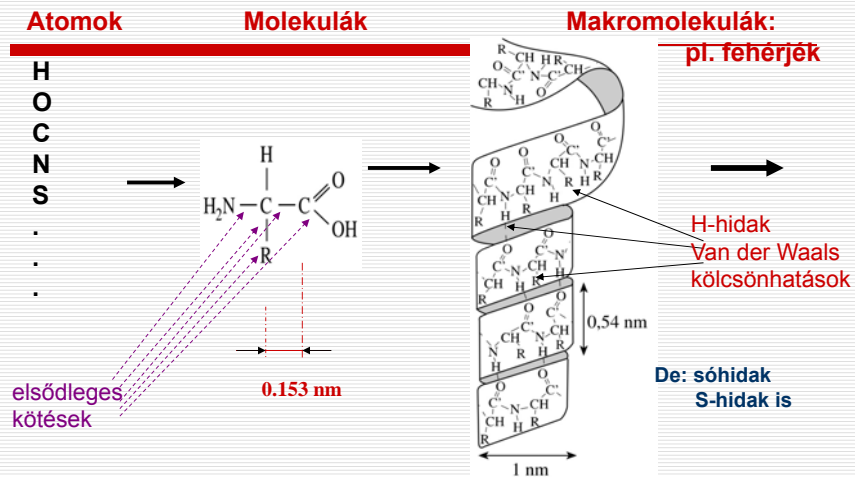
A szerkezeti rend kialakulásának szempontjai



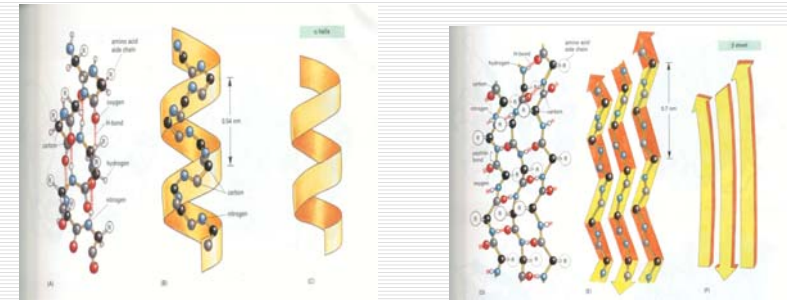
molekulák
makromolekulák
komplexek

szigorú
de nem statikus
rendben

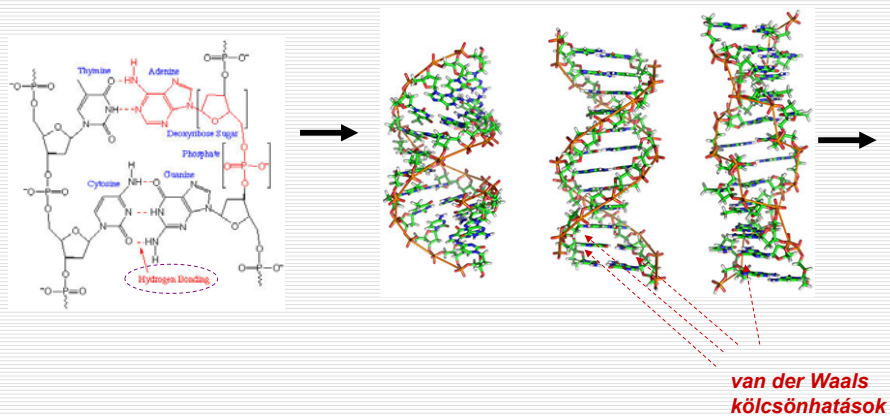
Biológiai rendszerek szerkezetét a kötések **hierarchiája** jellemzi



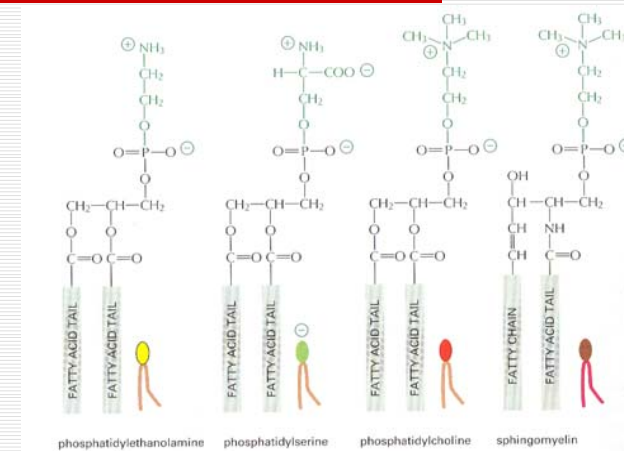
Fehérje másodlagos szerkezeti elemek: alfa helix, béta lemez

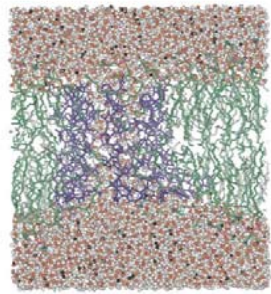


DNS kettős hélix szerkezetek

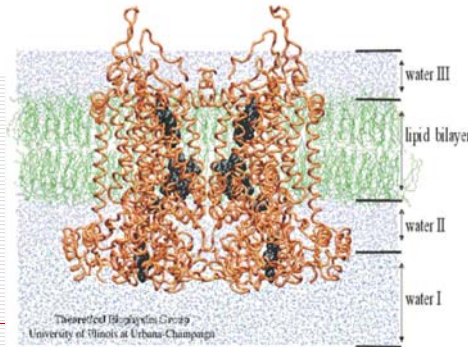


Kettős lipid-rétegek, biológiai membránok





Lipid-membránok komplexei fehérjékkel



Számítógépes szimuláció
eredményei

Molekulák

közötti kölcsönhatások biológiai rendszerekben

Molekulaszerkezetek kovalens kötéseik → kémia ?

Elektrosztatikus kölcsönhatások

1. Coulomb kölcsönhatás

q_1 és q_2 ponttöltések r távolságban

potenciális energia

$$E_{cb} = \frac{q_1 * q_2}{\epsilon * r}$$

(relatív) dielektromos állandó

A relatív dielektromos állandó ϵ

(„dielektrikum”: elektromos tér áthatol az anyagon – Faraday)

Definíció: kondenzátor kapacitása alapján

fegyverzetek között vákuum → U_0

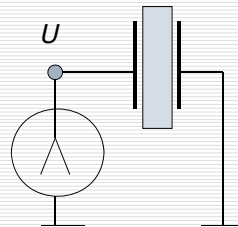
fegyverzetek között dielektrikum → $U < U_0$

dielektrikum kivétele $U \rightarrow U_0$ ($q_0 = q$)

$$C = \frac{q}{U}, \quad C_0 = \frac{q}{U_0} \Rightarrow C > C_0$$

$$\epsilon = \frac{C}{C_0} = \frac{E_0}{E} > 1$$

$$E = \frac{F}{q} \left[\frac{\text{Newton}}{\text{Coulomb}} = \frac{N}{C} \right] \text{elektromos térerősség}$$



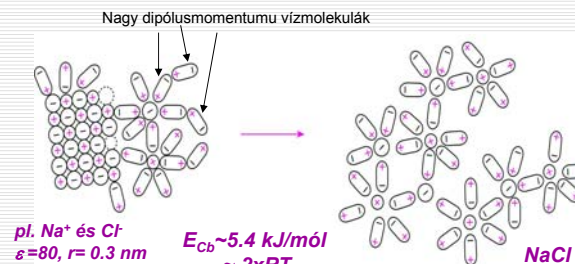
**A dielektrikum részecskéi polarizálódnak elektromos térben:
a fegyverzeten tárolt töltés erőtere csökken**

Két fontos közeg

víz
apoláros hidrokarbonok

ϵ
80
~2

Jelentősen módosítják az
elektrosztatikus kölcsönhatásokat



$$E_{cb} = \frac{q_1 * q_2}{\epsilon * r}$$

A Coulomb-potenciál termodinamikai értelmezése ionos oldatban

E_{Cb} az elektrosztatikus tér munkáját adja meg **állandó hőmérsékleten és nyomáson** miközben a töltések távolsága végtelenről „ r ”-re változik

E_{Cb} a **G Gibbs potenciál-változásnak felel meg** $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ miért lehet a Cb-potenciálnak entropikus jellege?

Pl. vizes közeg

$$\Delta S = -\frac{\partial \Delta G}{\partial T} = -\frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{q_1 * q_2}{\epsilon * r} \right) = -\frac{q_1 * q_2}{\epsilon^2 * r} \frac{\partial \epsilon}{\partial T} = \Delta G \frac{1}{\epsilon} \frac{\partial \epsilon}{\partial T}$$

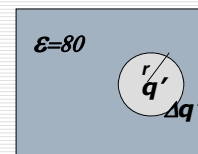
vízre: -0.0046/K
 $T\Delta S$ (T=300K) = -1.38ΔG

Az entrópia-tag nagyobb, mint ΔG!

A Cb potenciál nemcsak a kötési energiát fedezi (ΔH), hanem az ionoknak a vízmolekulákat rendező (S csökken!) hatását is!

A Coulomb-potenciál-ból származtatott hidratációs energia

Born-energia



$$\delta G = \frac{q' * \delta q'}{\epsilon * r}$$

$$\Delta G = \frac{1}{\epsilon * r} \int_0^q q' dq' = \frac{q^2}{2\epsilon * r}$$

A végzett munka ha egy ϵ dielektromos állandójú közegbe, egy r-sugarú üregbe q töltést viszünk be **pl. hidratációs energia**

Mekkora a végzett munka, ha egy iont (Na^+) vízből egy makromolekula v. lipid membrán belsejébe akarunk átvinni?

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G(\epsilon = 80) - \Delta G(\epsilon = 2) = -355 \text{ kJ / mól}$$

Nagy érték!

$r=0.095 \text{ nm}$, ion-rádiusz

Rashin, A.A., Honig, B. (1985) Reevaluation of the Born model of ion hydration. J.Phys.Chem. 89, 5588

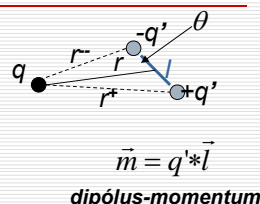
2. Dipól-kölcsönhatások

ponttöltés – dipól, dipól – dipól, statikus dipól, forgó dipól, indukált dipól

Egyszerű példa: ponttöltés – álló dipólus

$$E_{el.stat.} = -\frac{q' * q}{\epsilon * r^-} + \frac{q' * q}{\epsilon * r^+} \approx -\frac{q * m * \cos \theta}{\epsilon * r^2}$$

ha $l \ll r$



erősebben csökken a távolsággal

Trend: minél bonyolultabb töltéeloszlások hatnak kölcsön, annál erősebben csökken az energia a távolsággal

Pl. két dipólus
+ orientációs mozgás

$$E_{\text{MozgóDip-Dip}} = -\frac{m_1^2 * m_2^2}{3\epsilon^2 * r^6 * kT}$$

szabad rotáció csökkenti a kh. erősségét és rövidíti a hatótávolságot

Setlow and Pollard: Molecular Biophysics, Chpt.6, Palo Alto, Addison-Wesley, 1962

Egy különleges dipól – kölcsönhatás

Diszperziós kölcsönhatás
van der Waals kölcsönhatás
(London-féle erő)

Alapjelenség:

a töltéeloszlás molekulákon belül az atomok gyors hőmozgása miatt fluktuál → tranziens töltésszeparációk

egymás közelében levő molekulák tranziens dipólusmomentuma kölcsönhat → indukció, taszítás, vonzás

a vonzó kölcsönhatás energiája alacsonyabb → nagyobb populáció
→ **eredőben vonzó kölcsönhatás**

$$E_{\text{diszp}} = -\frac{1}{r^6} \frac{\alpha_1 * \alpha_2}{3n^4} \frac{I_1 * I_2}{I_1 + I_2}$$

molekulák polarizálhatósága molekulák ionizációs energiája
közeg törésmutatója

Eltérés a szabadon mozgó állandó dipólusok kölcsönhatásától →
távolság – függés hasonló, de **más paraméterek!**

Egy különleges dipól – kölcsönhatás

Diszperziós kölcsönhatás van der Waals kölcsönhatás (London-féle erő)

Megjegyzések:

-- α molekulák polarizálhatósága : $\vec{m} = \alpha * \vec{E}$

-- ϵ helyett n

$$\epsilon_{\text{víz}} \gg n_{\text{víz}} \Rightarrow E_{\text{MozgóDipólok}} \ll E_{\text{Diszp}}$$

-- formula érvényes, ha $r \gg l$

$$E_{\text{diszp}} = -\frac{1}{r^6} \frac{\alpha_1 * \alpha_2}{3n^4} \frac{I_1 * I_2}{I_1 + I_2}$$

Ezt a faktort nehéz általában elméletileg meghatározni, empirikus módszerekkel határozzák meg

-- speciális eset: hosszúkas alakú II hidrokarbon láncok
fehérjék, membránok lipidjei $E_{\text{diszp}} \approx \frac{1}{r^5}$

Az elektrosztatikus kölcsönhatások potenciális energiájának távolság-függése, és átlagos energiája

Kölcsönhatás	Energia-függvény távolság-függése	Átlagos kölcsönhatási energia (kJ/mól)
ion-ion	r^{-1}	200 - 300
ion - álló dipólus	r^{-2}	10 - 20
álló dipólus – - álló dipólus	r^{-3}	1 - 2
dipólus – dipólus hőmozgás mellett	r^{-6}	0.3
diszperziós kölcsönhatás	r^{-6}	2

Hidrogén-hidas szerkezetek

AH---B

elektronegatív pillératomok: O, N, F



Kölcsönhatás összetett: - kovalens
- elektrosztatikus - diszperziós

$d <$ van der Waals rádiuszok összege

Nagysága széles tartományban fordulhat elő

3 - 4 kJ/mól alifás szénhidrogének \rightarrow 80 - 100 kJ/mól enzimatis katalízis

12 - 35 kJ/mól biológiai makromolekulák

Víz - szerkezetek

	ΔH (kJ/mól)
H ₂ O....HOH	
gáz	-23
folyadék	-14
jég	-12 -30

Rendkívüli tulajdonságok

Hidrogén-hidas szerkezetek

Biológiai makromolekulák térszerkezetének kialakulása

speciális szempontok: - kötéserősség függ a környezettől
- nem a ΔH hanem a ΔG vezérli

?

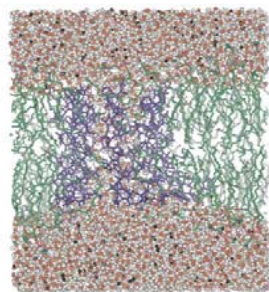


- amidok és karbonil csoportok erősen polárosak, de H-kötés csökkenti a polaritást \rightarrow H-kötések erősebbek a fehérjék és lipid membránok belsejében

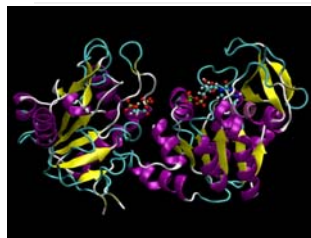
- network – formációk: H-donor atom töltéseloszlása megváltozik \rightarrow nő az elektronegativitás \rightarrow jobb akceptor lesz \rightarrow víz-klaszterek kialakulása, H-kötések láncolata fehérjékben

Hidrofób kölcsönhatás

biológiai makromolekulák belső szerkezetében igen jelentős



loncsatorna-fehéjre sejtmembránba ágyazva

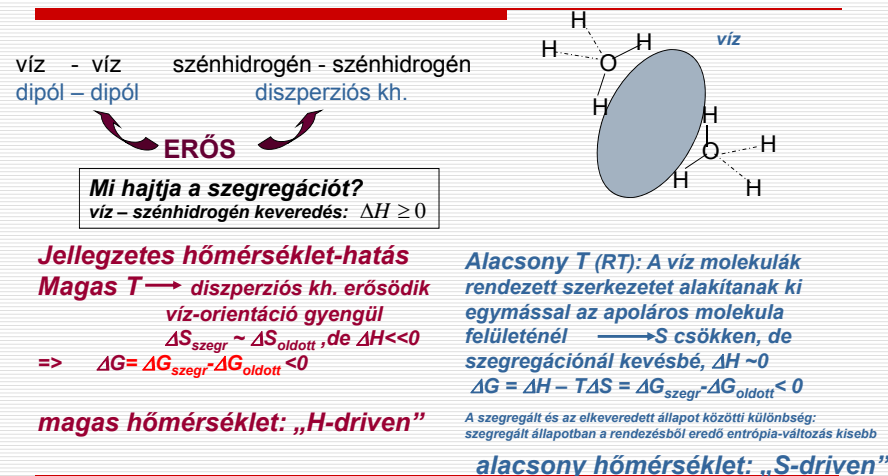


foszfoglicerát kináz enzim víz-dobozban

Az apoláros szénhidrogén-láncok egymás felé fordulva a víz-molekulákkal való kölcsönhatásokat csökkentik - hidrofób effektus

Hidrofób kölcsönhatás – termodinamikai értelmezés

elv: szénhidrogének és víz kölcsönhatása energia-befektetést igényel



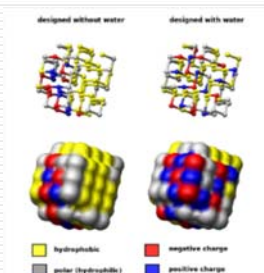
Dill, K.A. (1990) Dominant forces in protein folding. Biochemistry 29, 7133

Hidratációs erők

Makromolekulák felületi töltései kölcsönhatnak víz-molekulákkal.

Molekula – molekula kölcsönhatáshoz a kötött vízmolekulákat le kell választani. A kötött víz-molekulák helyettesítése nagy energia-befektetést igényel. Rövid távú kh.

$$r_{\text{hydr}} \sim 0.1 r_{\text{el.sztat}}$$



Különösen jelentős: fehérjéknél lipid membrán-felületeknél

π elektron – kation kölcsönhatások

töltés – kvadrupól (két dipól) és
töltés – indukált dipól jelleg

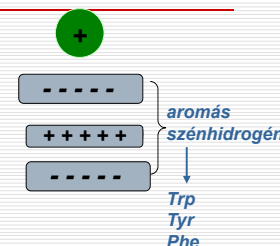
$$E_{kh} \approx -\frac{1}{r^3}$$

Vizes közeg kevésbé csökkenti mint a Cb-kh energiáját

$$E \xrightarrow{\text{víz}} 0.5 E$$

$$E_{Cb} \xrightarrow{\text{víz}} 0.05 E_{Cb}$$

$$\text{de } E \sim 0.25 E_{Cb}$$



Gallivan, J.P., Dougherty, D.A. (1999) Cation- π interactions in structural biology. PNAS 96, 9459 (2000) JACS 122, 870

Kovalens (atomi/kémiai) kötések energetikai leírása

Harmonikus potenciállal közelítik a kötés egyensúlyi paramétereit közelében:

Harmonikus rezgés a kötés mentén

$$E_{kov} = \frac{1}{2} \phi (x - x_0)^2$$

↑
egyensúlyi kötéstávolság

$$f = \sqrt{\frac{\phi}{m}}$$

kötéserősség

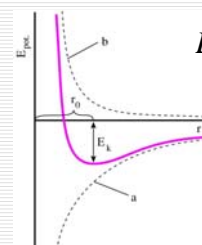
mérése IR spektroszkópiával: $f \rightarrow \phi$

C – C kötés nyújtása: $\phi = 275 \times 10^3 \text{ kJ/mol(nm)}^2$
pl. 0.01 nm nyújtás $\rightarrow E > 10 \text{ RT}$

Hasonló harmonikus potenciálok a kötés – szögek függvényében is.

\rightarrow kötések körüli elfordulások energiája $\sim RT$

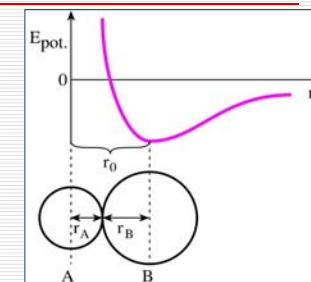
Eddig vonzó kölcsönhatások Kötések kialakulása: szterikus gátlás mellett



$$E_{pot} = \frac{B}{r^m} \quad \text{tasztítás}$$

$m > n$

$$E_{pot} = -\frac{A}{r^n} \quad \text{vonzás}$$



Atomi rádiuszok
értelmezése

r = kölcsönható részecskék távolsága
 r_0 = egyensúlyi kötéstávolság
 E_k = kötési energia

A kötéstávolság ($r_0 = r_A + r_B$) és kötési energia E_k a kölcsönhatási energiafüggvények konkrét függvény-alakjától függ (a és b)

Atomi rádiuszok különböző kölcsönhatásokban

Elem	Rendszám	Van der Waals sugár (nm)	Kovalens sugár (nm)	Ionsugár (nm)	Ion
H	1	0,120	0,037	–	H ⁺
C	6	0,170	0,077	0,029	C ⁺
N	7	0,155	0,075	0,025	N ⁺
O	8	0,152	0,073	0,140	O ²⁻
F	9	0,147	0,071	0,117	F ⁻
P	15	0,180	0,106	0,058	P ³⁺
S	16	0,180	0,102	0,184	S ²⁻

Szterikus gátlás a Pauli elv alapján:

Lennard – Jones potenciál

A **tasztító** potenciált az elektronfelhők átlapolása okozza –
rövid hatótávolságú kölcsönhatás

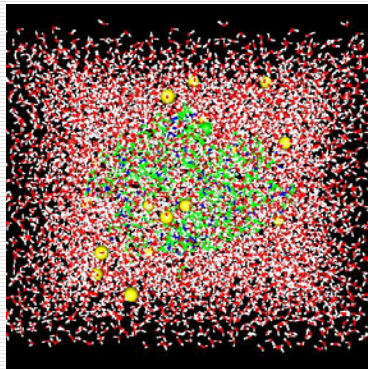
A **vonzó** kölcsönhatást a diszperziós/van der Waals potenciál adja:

$$E_{L-J} = 4E_0 \left(\left(\frac{r_0}{r} \right)^{12} - \left(\frac{r_0}{r} \right)^6 \right)$$

Kötési energia

A makromolekulák szerkezete és komplex-képzése a környezeti molekulákkal való kölcsönhatás jelenlétében energia-minimum-állapotot jelent

44 kDa
tormaperoxidáz
enzim víz-ion
környezetben



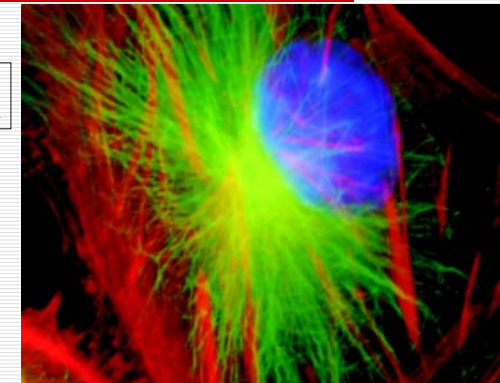
Zöld: fehérje

Sárga: ionok

Piros-fehér:
vízmolekulák

További szerveződés sejtes szinten
– „molecular crowding”

Piros: aktin
filamentumok



Kék:sejtmag

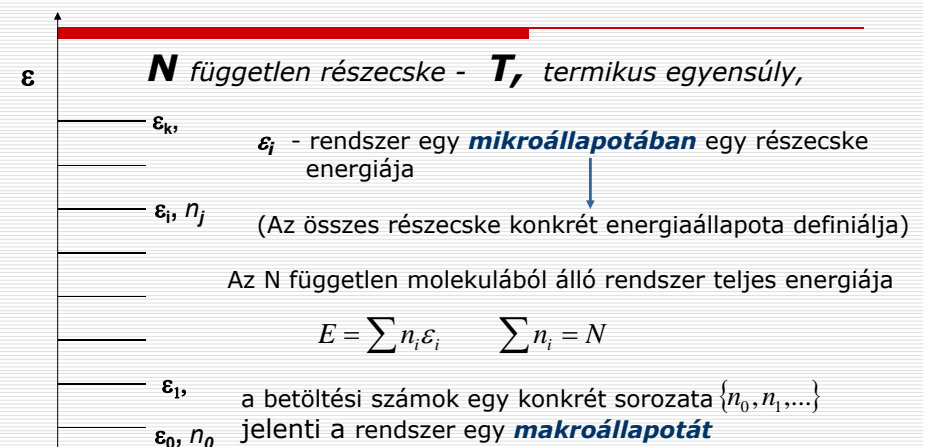
Zöld: microtubulusok

A biológiai folyamatokban az energia-minimum-elvek statisztikus jelleggel érvényesülnek.

Kötések folyamatosan felszakadnak és újraépülnek,
a kötéserősségek hierarchiája alapján

„szerkezeti dinamika”

Boltzmann eloszlás



Boltzmann eloszlás

$$p_i = \frac{e^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}}}{Z}$$

Boltzmann eloszlás – fontos összefüggések

Annak valószínűsége, hogy adott ε_i energiájú állapot a rendszerben megvalósul

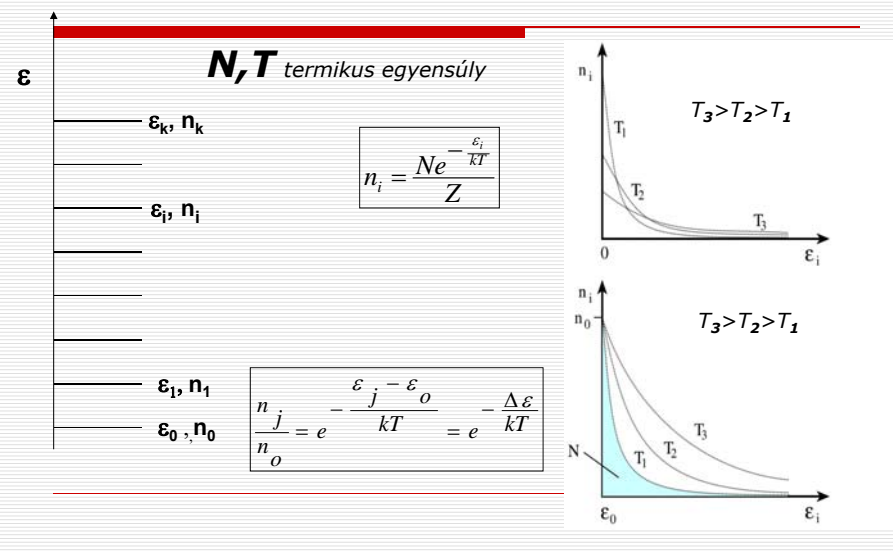
$$Z = \sum_i e^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}} \quad \text{állapotösszeg}$$

$$n_i = \frac{Ne^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}}}{Z}$$

$$\frac{n_i}{n_0} = e^{-\frac{\varepsilon_i - \varepsilon_0}{kT}} = e^{-\frac{\Delta\varepsilon}{kT}} \quad \text{Boltzmann faktor}$$

Két energiaállapot relatív betöltöttsége

Boltzmann eloszlás – összhangban a tapasztalattal

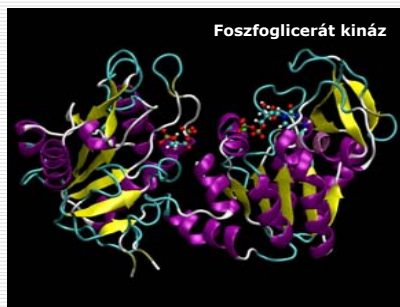


Mit értünk a biológiai anyag „szerkezetén”?

Pl. makromolekuláris **konformáció** ?

Energia-minimum

igen sokféle kölcsönhatás



Röntgenkristallográfia
NMR

A konformáció sok „mikroállapot” időbeli és térbeli eredője

Hőmérsékletre érzékeny

Molekuláris/makromolekuláris szerkezetet kialakító kölcsönhatások

$E_k \sim$ **elsődleges kötések** : kovalens

ionos
fémes

2 – 6

eV/kötés

$E_k \sim$ **másodlagos kötések**

H-híd 0.1 - néhányszor x **0.1**

Hidrofób kölcsönhatás **~ 0.1**

elektronvolt
1 eV= 23 kcal/mole ~
~ 100 kJ/mole

van der Waals dipól – ponttöltés **~ 0.1-0.2**

dipól – dipól **~ 0.02**

dipól– indukált dipól **~ 0.01**

időleges dipól **~ 0.02**

(diszperziós)

Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

Kérdés: van-e olyan kötés a szerkezetben, ahol az energiaállapot a kötött állapothoz képest éppen a kötési energiával magasabb?

többlet-energiával bíró
kötések száma

$$\frac{n}{n_{\text{kötött}}} = e^{-\frac{E_k}{kT}} \approx \frac{n}{N}$$

$$kT \sim 0.027\text{ eV}$$

$$RT \sim 2.6\text{ kJ/mol}$$

$$T=310\text{ K}, \quad k=1.38 \times 10^{-23}\text{ J/K Boltzmann állandó}$$

$$kT \longleftrightarrow E_k$$

Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

$$0.027\text{ eV} \longleftrightarrow E_k$$

többlet-energiával bíró
kötések száma

$$\frac{n}{n_{\text{kötött}}} \approx e^{-\frac{E_k}{kT}} \approx \frac{n}{N}$$

Elsődleges kötések $pl. E_k = 2.7\text{ eV}$

$$E_k \gg kT \quad \frac{n}{N} \approx e^{-\frac{2.7\text{ eV}}{0.027\text{ eV}}} = e^{-100} \approx 0$$

Termikus okokból elsődleges kötések
nem szakadnak fel testhőmérsékleten

A szervezetet felépítő alpmolekulák szerkezete stabil

Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

$$0.027\text{ eV} \longleftrightarrow E_k$$

Másodlagos kötések
H-hidak

$$pl. E_k = 0.1\text{ eV} \quad (1-7\text{ kcal/mole})$$

$$\frac{n}{N} \approx e^{-\frac{0.1\text{ eV}}{0.027\text{ eV}}} \approx e^{-3.7} = 2.46 \times 10^{-2} \approx 2.5\%$$

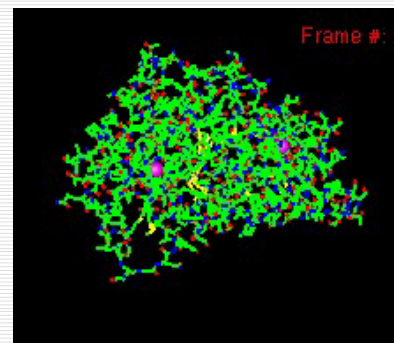
**Hidrofób kölcsönhatások,
van der Waals kölcsönhatások**

$$E_k \xrightarrow{\text{elsődleges} \rightarrow \text{van der Waals/diszperzió}} kT$$

Termikus okokból elsődleges kötések
nem szakadnak fel testhőmérsékleten

**A másodlagos kötések jelentős számban
felszakadtak testhőmérsékleten \longrightarrow szerkezeti dinamika**

A szerkezeti dinamika alapvetően fontos szerepet kap a
biológiai makromolekulák funkcionális kölcsönhatásaiban



tormaperoxidáz enzim
nanosecundum-os időtartomány



foszfogllicerát kináz enzim
millisecundum-os időtartomány

A Boltzmann eloszlás figyelembevétele az energetikai megfontolásokban: az elektrosztatikus potenciál leírása a Poisson – Boltzmann egyenlettel

Poisson-egyenlet : ponttöltések és dipólusok helyett általános töltéssűrűség-eloszlásnak megfelelő potenciál-függvényre (φ):

$$\nabla^2 \varphi(\vec{r}) = -\frac{4\pi}{\varepsilon} \rho(\vec{r}) \quad [\text{cgs}]$$

Egy referencia-ponthoz viszonyított helyzetvektor

Töltés-sűrűség-eloszlás

$$\rho(\vec{r}) = q_e * N_{Av} * \sum_i z_i * c_i(\vec{r})$$

Ion-koncentráció Mól/l

Ponttöltés által végzett munka a φ potenciáltérben

$$\Delta E = q * U = q * (\varphi_2 - \varphi_1)$$

$c_i(\infty) = \text{bulk konc. ahol } \varphi(\infty) = 0$

Boltzmann-eloszlás figyelembe-vétele:

$$\frac{c_i(\vec{r})}{c_i(\infty)} = e^{-\frac{q_e * z_i * \varphi(\vec{r})}{kT}}$$

A Boltzmann eloszlás figyelembevétele az energetikai megfontolásokban: az elektrosztatikus potenciál leírása a Poisson – Boltzmann egyenlettel

Poisson-Boltzmann-egyenlet:

$\varphi(r)$ elektromos potenciál-függvény, ami figyelembe veszi az ionok árnyékoló hatását

$$\nabla^2 \varphi(\vec{r}) = -\frac{q_e * N_A}{\varepsilon} \sum_i z_i * c_i(\infty) e^{-q_e * z_i * \varphi(\vec{r}) / kT}$$

Egyszerűbb formák,
Elhanyagolások,
Következmények

Debye –távolság
(ionok árnyékoló hatása)

gyakorlaton

Ajánlott irodalom:

Meyer B. Jackson: Molecular and Cellular Biophysics
2006, Cambridge University Press

Damjanovich, Fidy, Szöllősi: Orvosi Biofizika
2008, Medicina