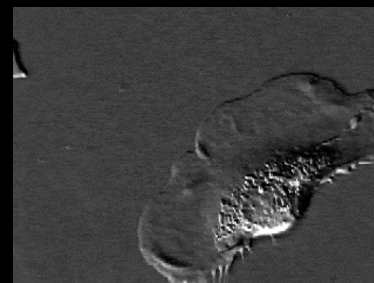


Biomolekulák és sejtek mechanikai tulajdonságai

Kellermayer Miklós

Semmelweis Egyetem
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

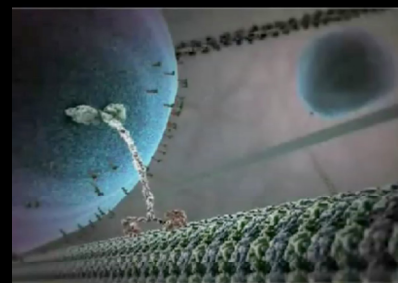
Élő sejtben: molekulagépezetek sokasága



Tovakúszó keratinocita



Mikrotubulus dinamikus instabilitás



Vezikulum transport kinesinnel



Fehéjeszintézis riboszómán

<http://multimedia.mcb.harvard.edu>

Biomolekulák mechanikája

Miért érdekes?

A mechanikai erő...

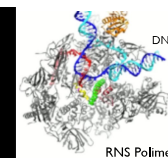
1) kifejlődik:



Kinezin



F1F0 ATPáz



DNS

RNS Polimeráz



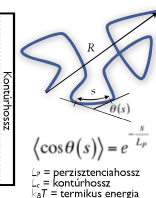
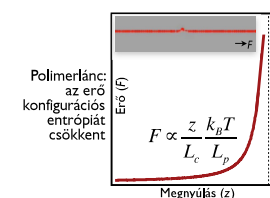
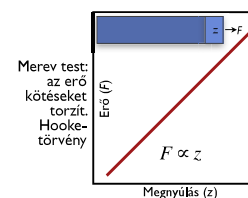
Riboszóma

mRNS

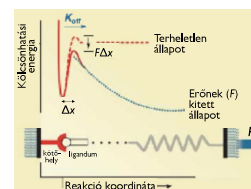
naszáns fehérítanc

naszáns fehérítanc

2) deformálja a szerkezetet:



3) kötéseket szakít fel:

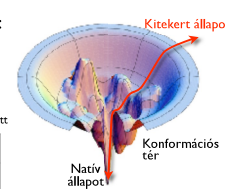


Terhelt kötés élettartama csökken:

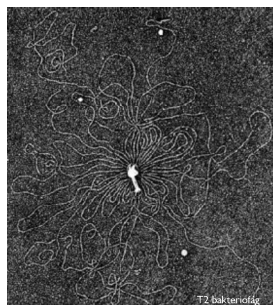
$$\tau(F) = \omega e^{-\frac{E_a - F \Delta x}{k_B T}}$$

ω = karakterisztikus idő
 E_a = aktivációs energia
 Δx = távolság a kötött és tranzíciós állapotok között

Kötés	Kovalens	Hidrid, elektrosztatikus
Szakítási erő	$\sim nN$	néhány 10 pN

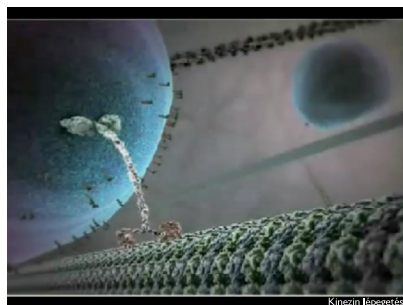


Hajlítási rugalmasság



T2 bakteriofág

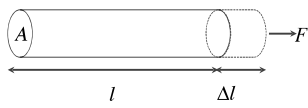
Motor fehérje működés



Kinezin lépégetés

Kis anyagtan: merev testek rugalmassága

Hooke féle rugalmasság



$$\frac{F}{A} = E \frac{\Delta l}{l}$$

$$\sigma = E \varepsilon$$

F = erő

A = keresztmetszet

l = nyugalmi hossz

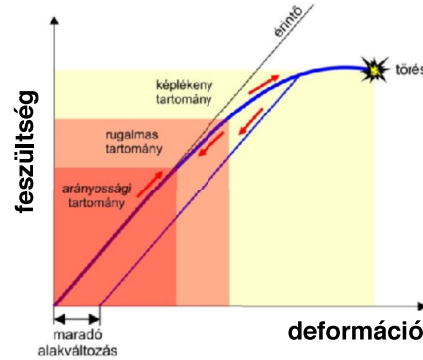
Δl = hosszváltozás

$F/A = \sigma$ = feszültség ($\text{N/m}^2 = \text{Pa}$)

$\Delta l/l = \varepsilon$ = deformáció (nincs m.e.)

$E = \sigma / \varepsilon$ = Young modulus (Pa)

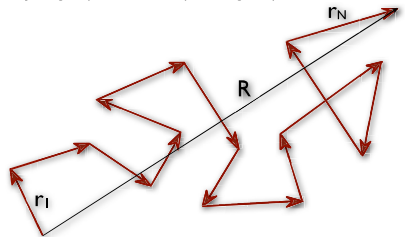
Feszültség-deformáció diagram



Anyag	Young modulus (GPa)
Cyémárt	1200
Acél	211
Üveg	73
Plexi	3
Gumi	0.02
Selyem	5-10
Keratin	2.4
Aktin	2.3
Kollagén	2
Tubulin	1.9
Elasztin	0.002

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;
 $l = |r_i|$ = korrelációs hossz ("perzisztenciahossz", hajlítómerevség mértéke); $Nl = L$ = kontúrhossz

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

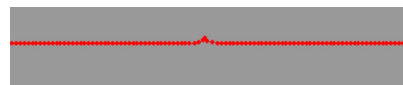
Makroszkópikus folyamat esetén: $\langle \Delta x^2 \rangle = 2Dt$.
 $\langle \Delta x^2 \rangle$ = átlagos négyzetes elmozdulás, D = diffúziós állandó, t = diffúziós idő (megfigyelés időtartama)

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

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

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

Az entrópiamaximumra törekvés miatt a polimerlánc rövidül.

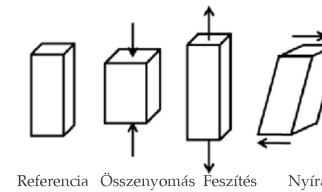


Mechanikai erők sejtekben, szövetekben

A szövetekben működő erőhatások

A szöveti erők eredete:

- sejtcses feszítés / nyomás
- folyadék áramlás
- mozgás: nyújtás / összenyomás
- hidrosztatikai / ozmózis nyomás



Erők mint mechanikai szignál:

- irányított
- lecsengés: $1/r$
- komplex térbeli információt hordoz
- hosszú távú kommunikáció
- gyorsan szabályozható
- nincs diffúzibilis intermedier

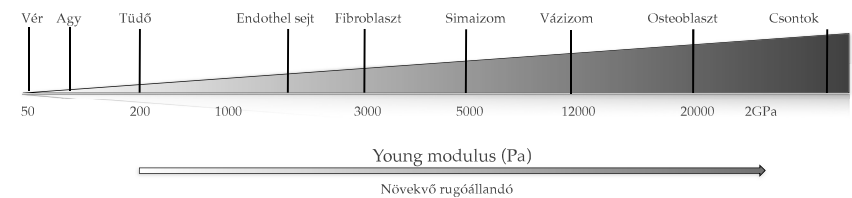
Celluláris dimenziók:

Hossz: μm Erő: pN

1Pa = 1pN/ μm^2

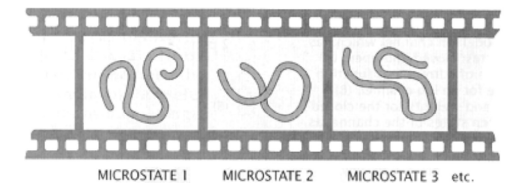
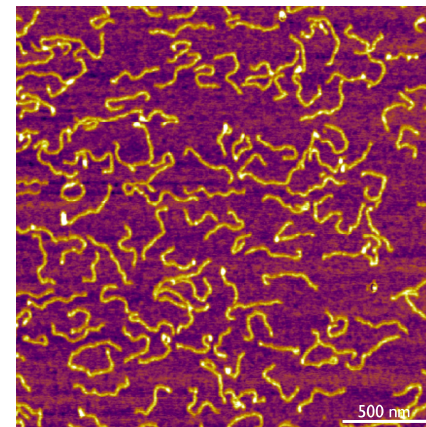
Oldékony (kémiai) szignálok:

- gyors diffúzió (nem irányított)
- lecsengés: $1/r^2$
- rövid távú kommunikáció
- diffúzibilis intermedier



Polimérlánc "egyensúlyi" alakja

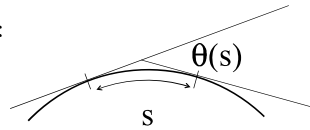
Az a makroállapot, amely a legtöbb mikroállapottal valósítható meg (legvalószínűbb állapot)



DNS molekulák atomerő mikroszkópos felvétele

Féregszerű polimérmodell (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

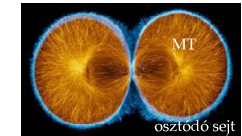
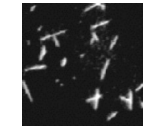
Értelme: minél merevebb egy lánc, annál nagyobb távolságon (l_p) lesznek csak észlelhetők a termikusan gerjesztett fluktuációk.

A lánc alakja és rugalmassága között összefüggés van

Merev lánc

$$l_p \gg L$$

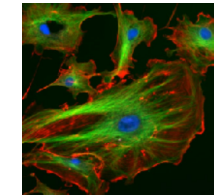
Mikrotubulus



Szemiflexibilis lánc

$$l_p \approx L$$

Mikrofilamentum

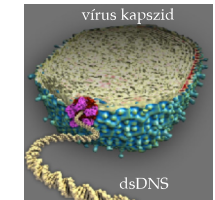
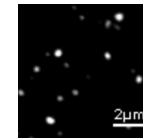


aktin
tubulin

Flexibilis lánc

$$l_p \ll L$$

DNS



l_p = perzisztenciahossz
 L = kontúrhossz

A polimérlánc erővel kinyújtható

$$F \sim \frac{k_B T}{l} \cdot \frac{R}{L} + \left(\frac{R}{L}\right)^a$$

F = erő

l = perzisztenciahossz

k_B = Boltzmann állandó

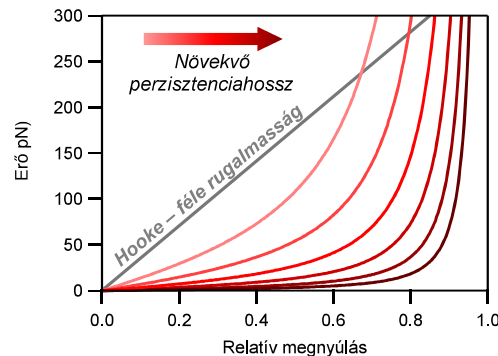
T = abszolút hőmérséklet

L = kontúrhossz

R = vég-vég hossz

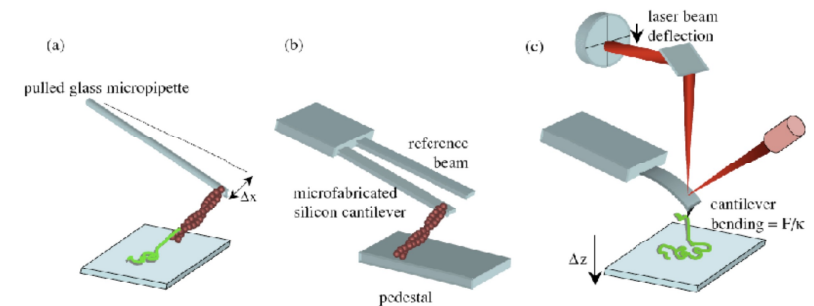
R/L = relatív megnyúlás

Nemlineáris erőválasz

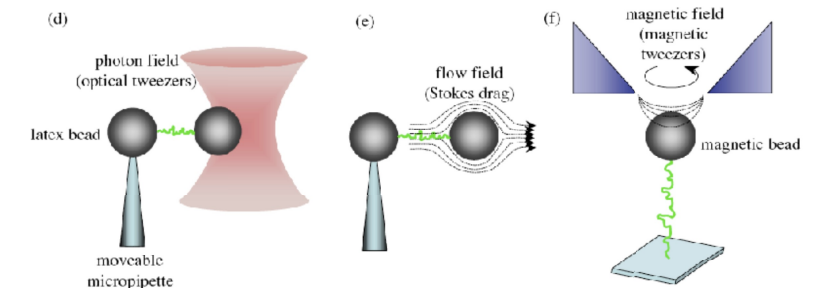


Egyedi molekulák manipulálása

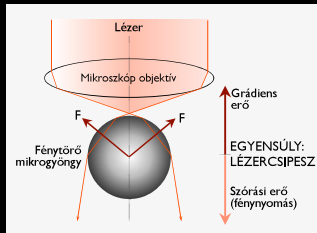
Laprugó módszerek:



Mező alapú módszerek:



Manipulálás fénnel: lézercsipesz



Aktin filamentum



Fluoreszcencia kép



DNS

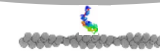
Fluoreszcencia kép

Arai et al. Nature 399, 446, 1999.

piko = 10^{-12}

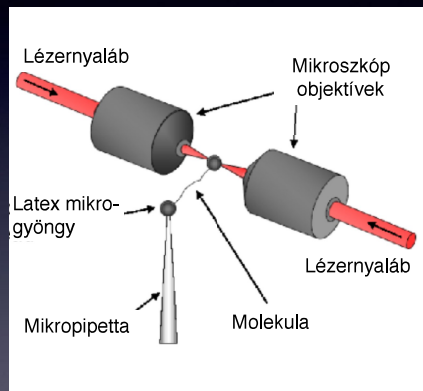
MOLEKULA - FOGANTYÚ GEOMETRIA

mikrogöngy ~ 1 µm

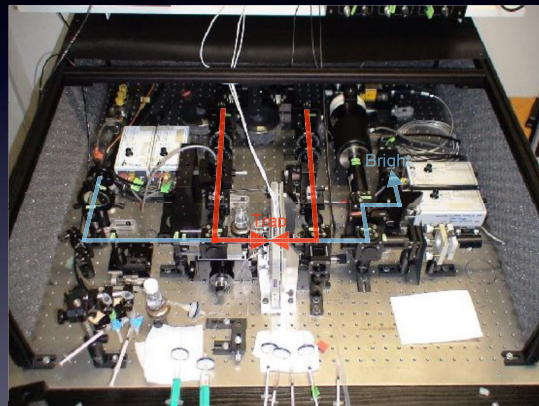


molekula ~ 10 nm

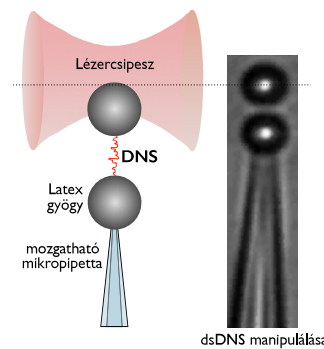
A lézercsipesszel erőt is lehet mérni!



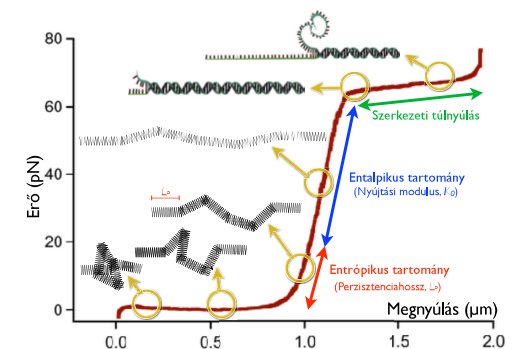
Két lézersugaras optikai csipesz berendezés



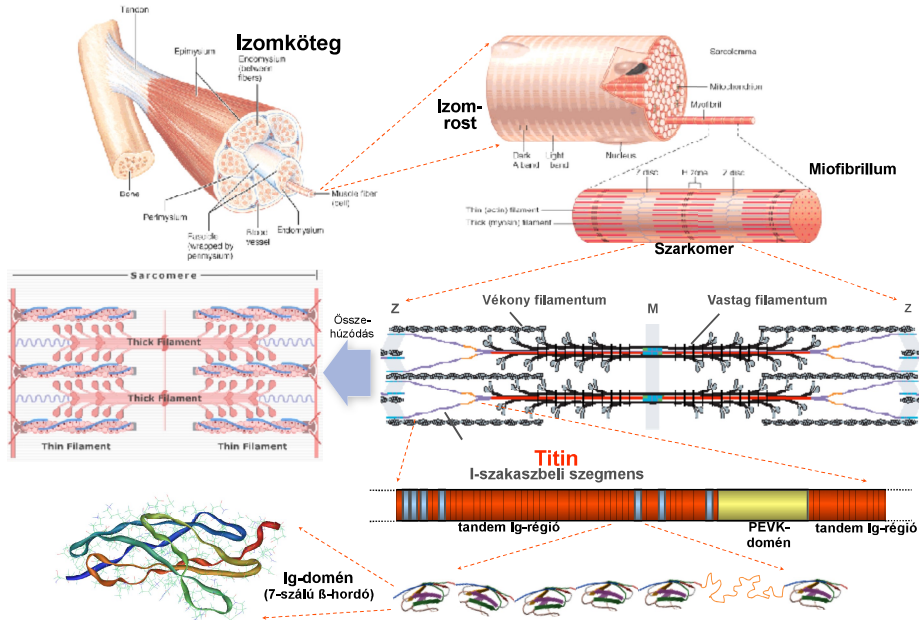
1. példa: dsDNS nanomechanikája



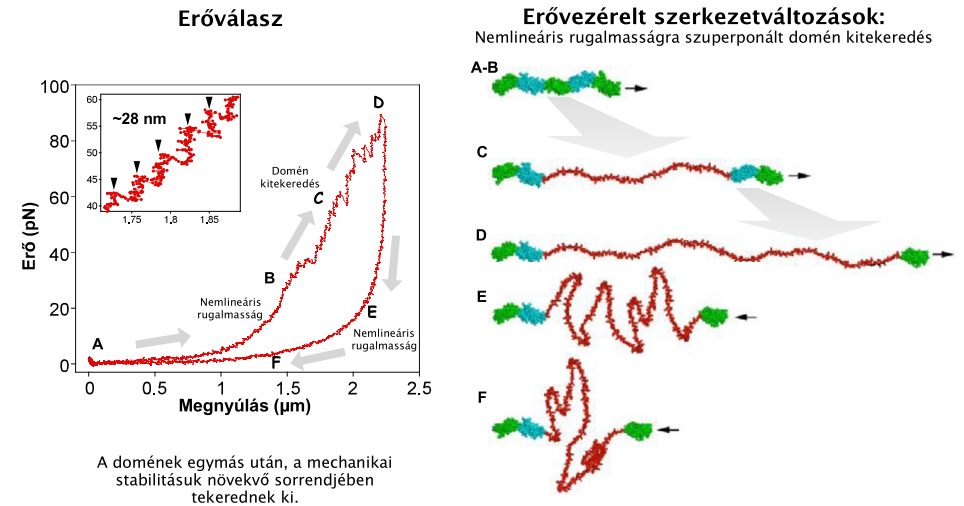
dsDNS manipulálása



2. példa - Titin: rugalmas molekuláris “gyöngyfűzér”

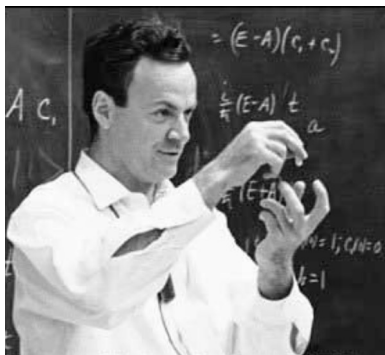


Titinmolekula nanomechanikája lézercsipesszel



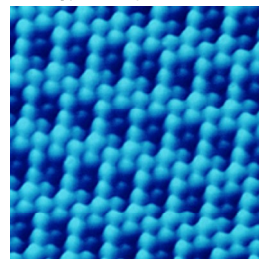
Pásztázó tűszondás mikroszkópia (SPM) Atomi erőmikroszkóp (AFM)

A nanotudományok “álomműszerei”



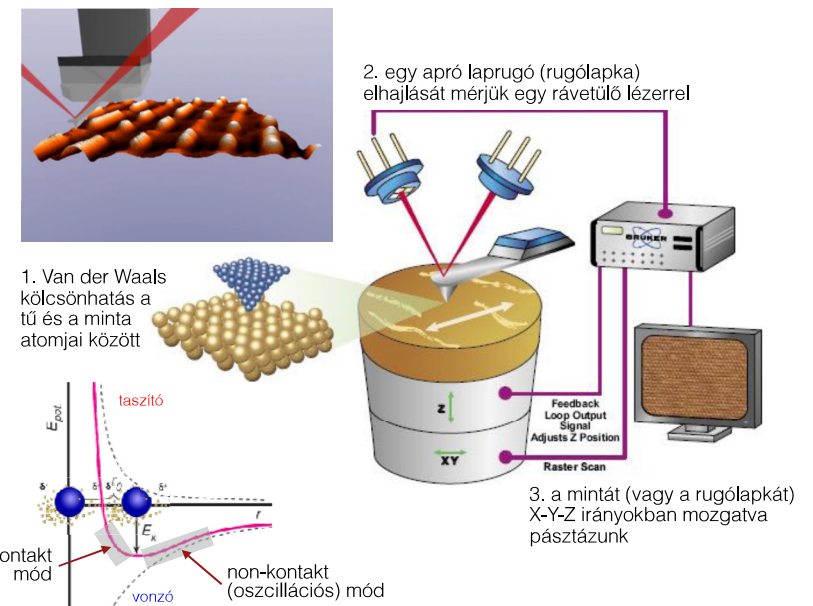
Richard P. Feynman:
“There is plenty of room at the bottom”
1959. december 29.

Oxigén atomok rhodium
egy kristály felületén



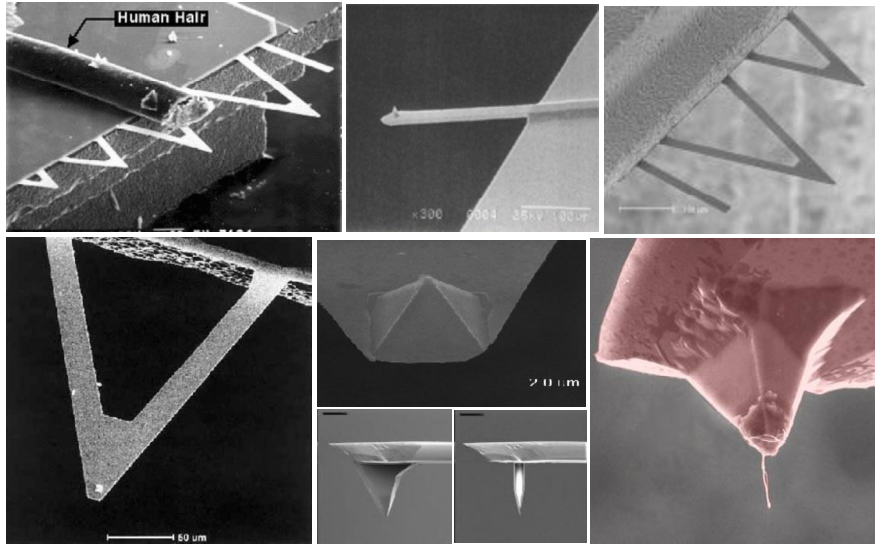
a “nanovilág” léptéke:
1 nanométer

Az atomi erőmikroszkóp (AFM)

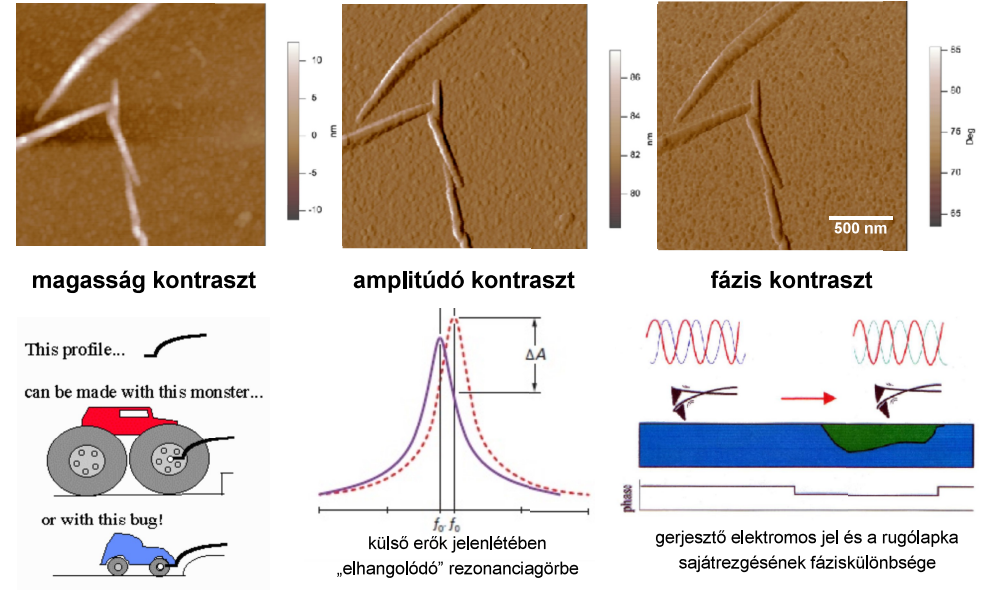


AFM Rugólapkák és tűk

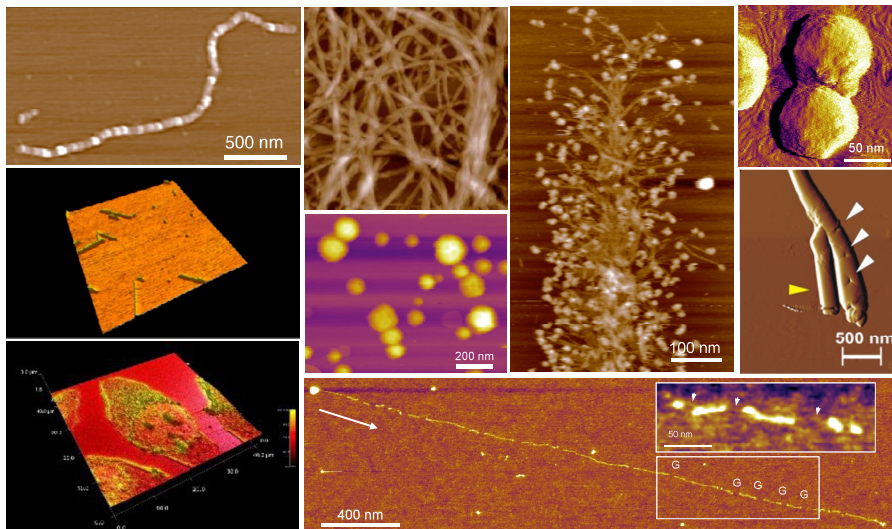
Az AFM kép térbeli feloldóképességét a tű görbületi sugara határozza meg



Kontrasztmechanizmusok

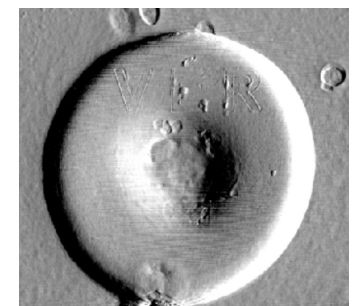
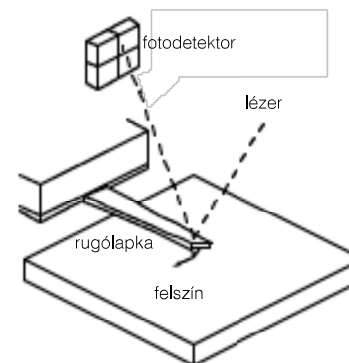


AFM képképzés

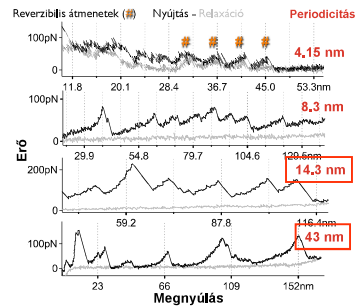
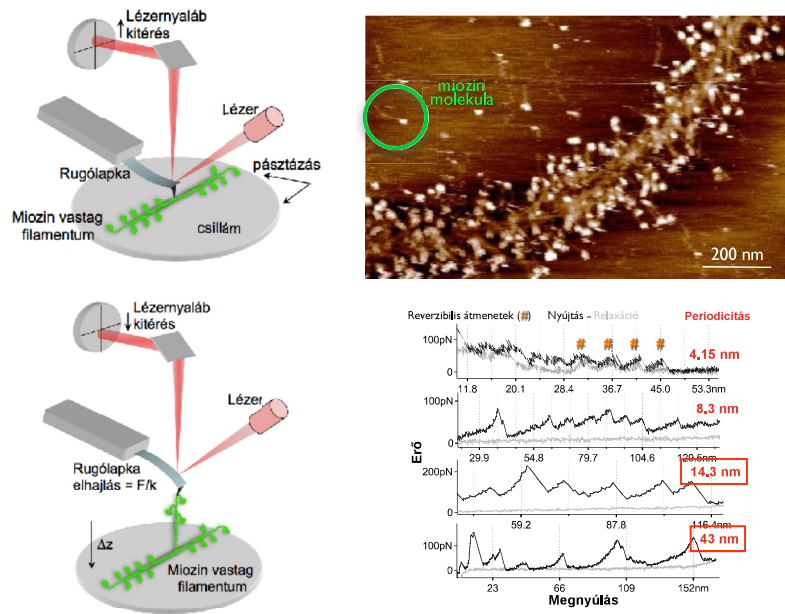


Nanolithográfia

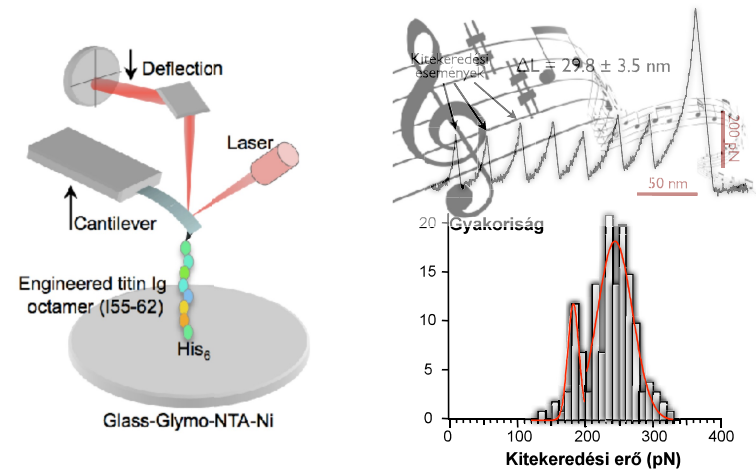
Lithos: kő, grafia: rajzolni



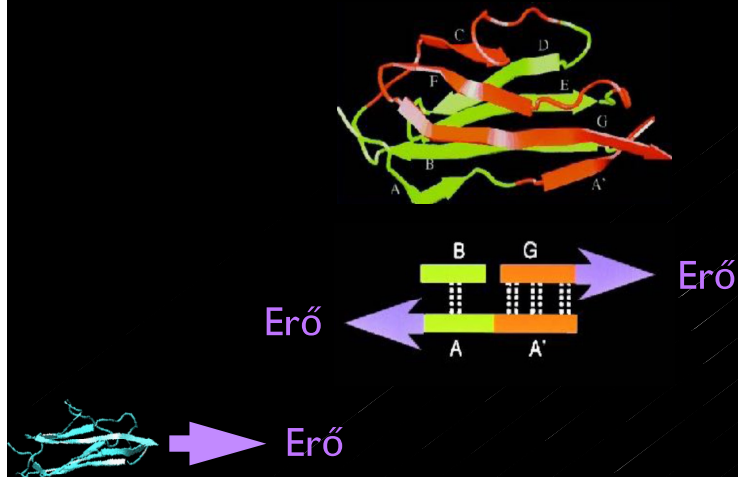
Molekulamanipulálás AFM-mel



Rekombináns titin fragmentum (Titin I55-62) nanomechanikája



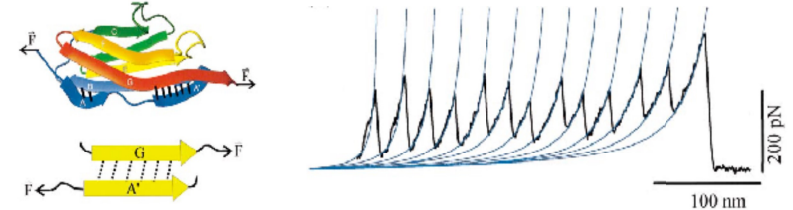
A titin doméneket párhuzamosan csatolt H-hidak stabilizálják



A mechanikai stabilitás biológiai logikája

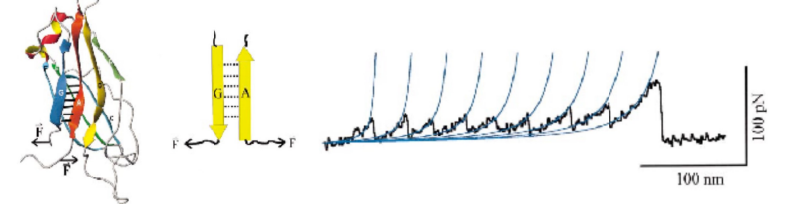
Szerkezetet összetartó H-hidak párhuzamos csatolása

Nagy kitéreredési erő



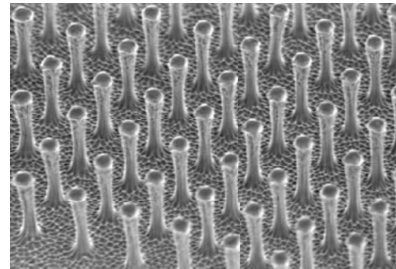
Szerkezetet összetartó H-hidak soros csatolása

Alacsony kitéreredési erő



Makroszkópikus mechanikai stabilitás

Effektív ragasztóanyag a párhuzamos csatolás elvén



Mesterséges gecko talp
Nanotechnológiával készítve

Gecko talp felületi tapadása:
Párhuzamosan csatolt Van
der Waals kötések a serték
és a felület között