

AZ ÉLŐ SEJT FIZIKAI BIOLÓGIÁJA

KELLERMAYER MIKLÓS

Fizikai biológia

- Ma már nem csak kvalitatív megfigyeléseket, hanem kvantitatív méréseket végzünk (biológiai adatok → kvantitatív adatok).
- Kvantitatív adatokból kvantitatív modelleket építünk
- Kvantitatív modellektől elvárjuk, hogy kísérletesen tesztelhető predikciókkal szolgáljanak.

"Make things as simple as possible, but not simpler."
Albert Einstein

Modellépítés kiinduló szempontjai

- Milyen tények állnak rendelkezésre?
 - a. Bárki által megállapítható tények (pl., a sejt fehérjét tartalmaz)
 - b. Hosszas kísérletezés által elfogadottnak nyilvánított tények (pl. a fehérjék a riboszómán szintetizálódnak)
 - c. Spekulatív kijelentések (pl. a mitokondriumok ősi baktériumok leszármazottai)
- Érdekes vagy fontos a probléma?
- A biológiai entitások nem sérthetik a fizika és kémia törvényeit.

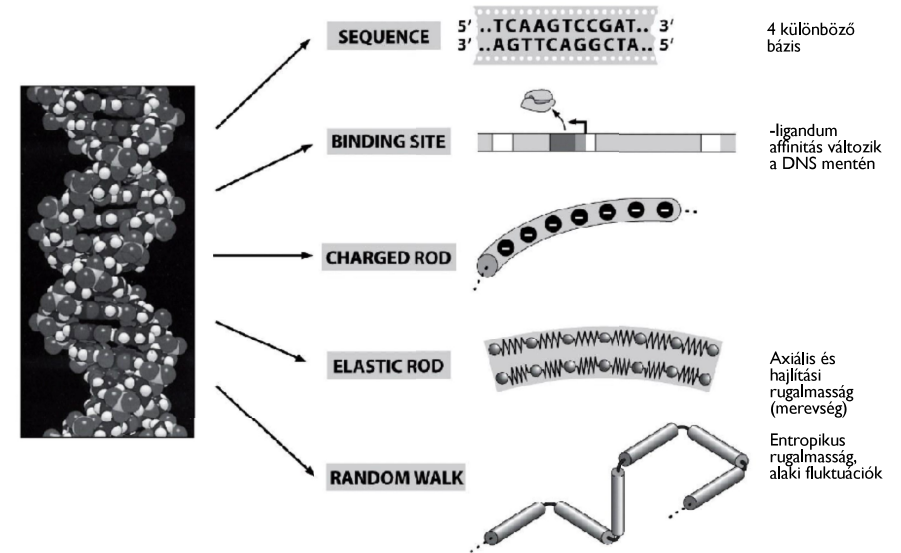
Mitől élő az élő?

- Az élet mivoltát ma is csak közelítő, leíró kvalitások összességével tudjuk megadni
 - (pl. növekedés, szaporodás, energiafelhasználás/átalakítás, reprodukció)
- Az élő sejt meglepően kevés elemből épül fel.
- A sejt különleges (szerkezetű és funkciójú) makromolekulákat tartalmaz
 - (fehérjék, nukleinsavak, szénhidrátok, lipidek)
 - a makromolekulák egyszerű alegységek kombinatoriális egymáshoz kapcsolódásával keletkeznek.
 - a makromolekulák információt kódolnak (különböző "nyelven")

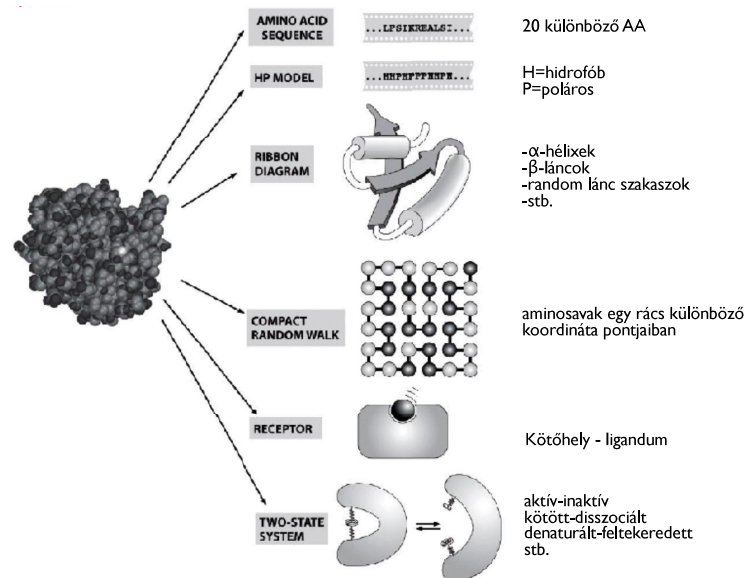
Biológiai modellépítés

- Absztrakció
- Egyszerűsítés
- A **makromolekulák** teljes atomi leírására nem tudunk törekedni
- Projekciót végzünk, amely a makromolekula bizonyos aspektusát tükrözi
- Idealizáció

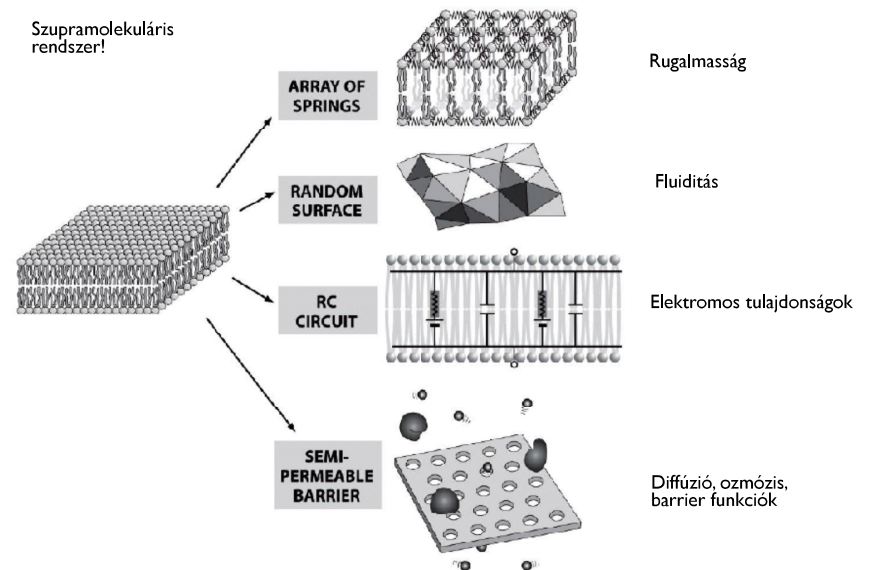
A DNS-molekula idealizálása



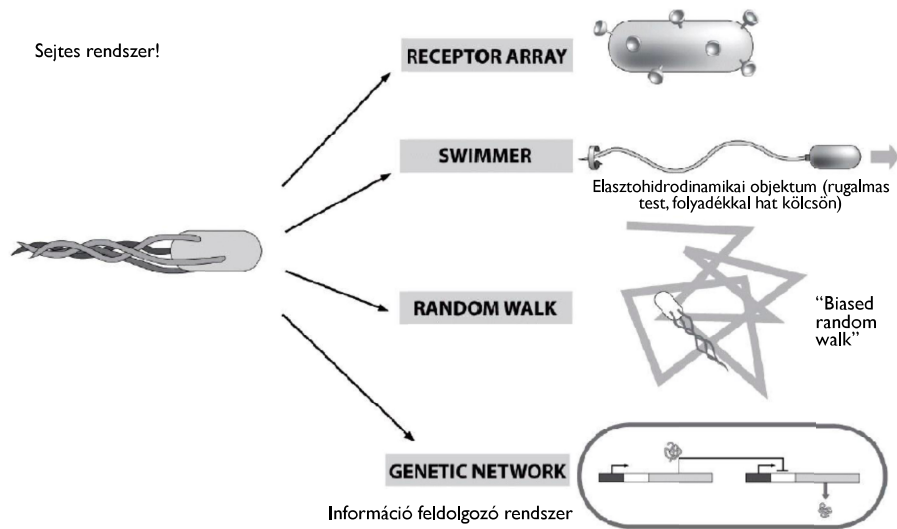
A fehérjemolekula idealizálása



A lipidmolekulák, membránok idealizálása



Az *Escherichia coli* sejt idealizálása

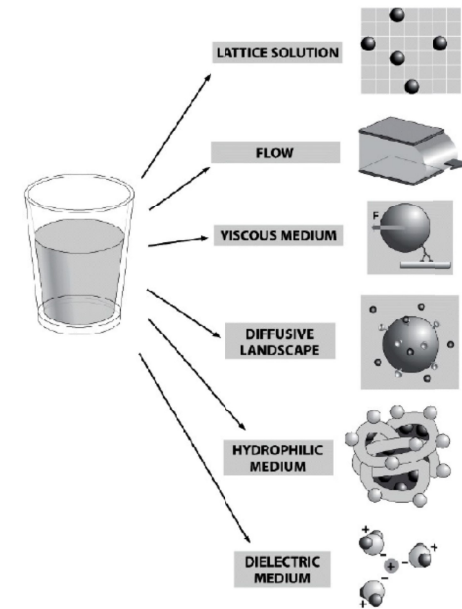


Egy oldat idealizálása

Élő sejt mint oldat rendszer (?)

Homogén

Izotróp



Rugalmasság idealizálása, kiterjesztése, alkalmazása

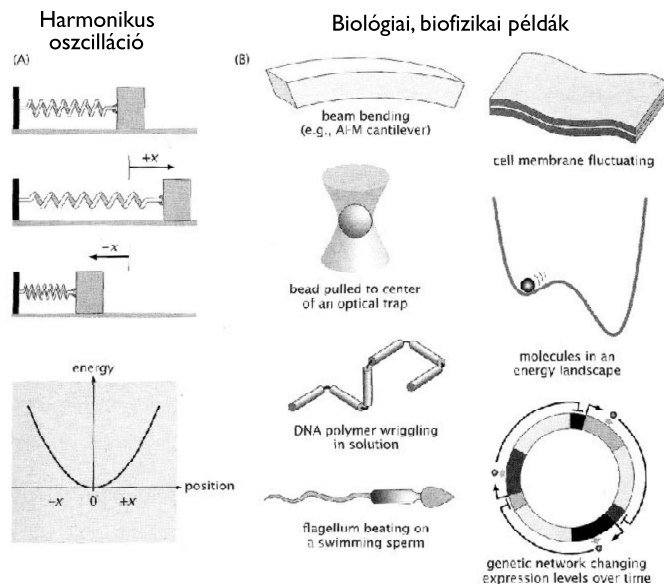
Átlagos kitérés egyensúlyi helyzetből:

$$Energia = \frac{1}{2} \kappa x^2$$

κ : rugóállandó - az egyensúlytól való eltávolodás energetikai költsége

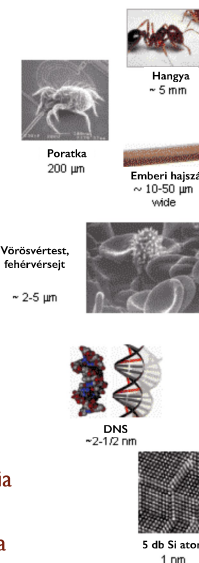
Visszatérítő erő:

$$F = -\kappa x$$



Skálázódás a biológiában Biomolekuláris rendszerek méretskálája

Termodinamika



Mezoscála

Kvantumkémia

Kvantumfizika

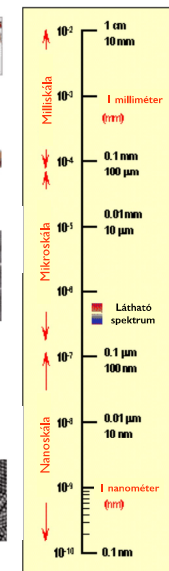
10^{23} Atom

10^{10} Atom

10^3 Atom

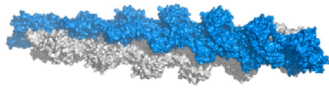
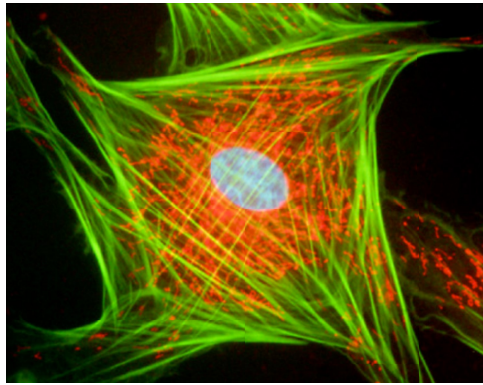
10^1 Atom

10^0 Atom

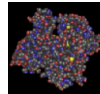


Az élő sejt méretskálája

Rudolf Virchow (1855): "Omnis cellula e cellula"



Aktin filamentum (d=7 nm)



G-aktin (d=5 nm, cc~100 μM)



Kálium ion (d=0.15 nm, cc~150 mM)

Egyszerűsített sejtmodell: kocka



	Sejt: 20 μm oldalalú kocka	Analógia - Tanterem: 20 m oldalalú kocka
Aktinmolekula mérete	5 nm	5 mm
Aktinmolekulák száma	~500 ezer	~500 ezer
Aktin átlagos távolsága	~250 nm	~25 cm
Kálium ion mérete	0.15 nm	0.15 mm
Kálium ionok száma	~10 ⁹	~10 ⁹
Kálium ionok átlagos távolsága	~20 nm	~2 cm

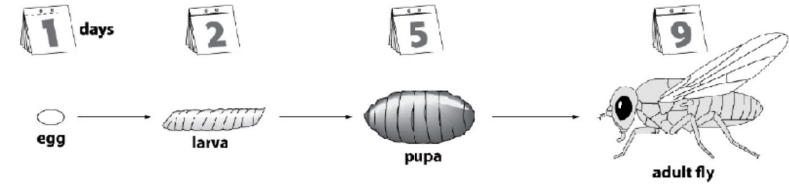
A modell hiányosságai:

- a koncentrációk lokálisan változnak
- dinamika: állandó mozgás, ütközés
- kölcsönhatások, a dinamika miatt sokféle

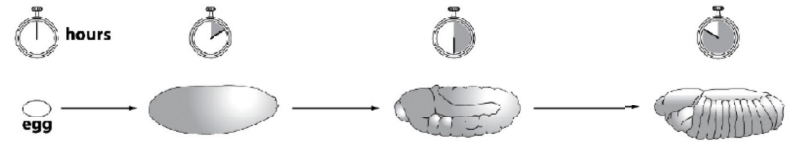
Skálázódás a biológiában

Biológiai időskála I.

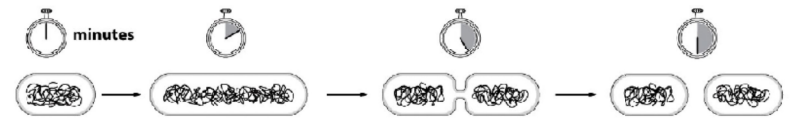
development of *Drosophila*



early development of *Drosophila* embryo



bacterial cell division

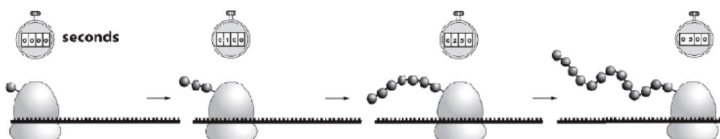


Biológiai időskála II.

cell movements



protein synthesis

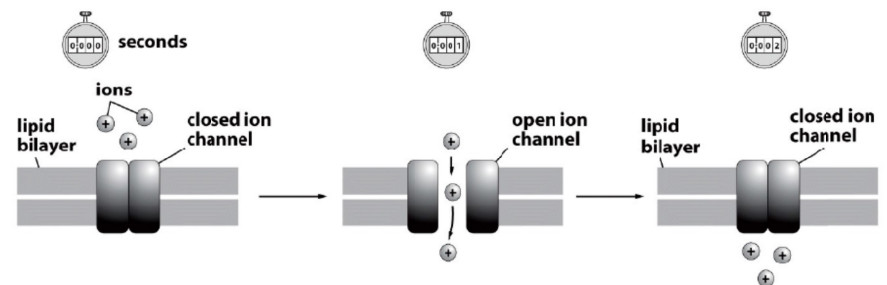


transcription

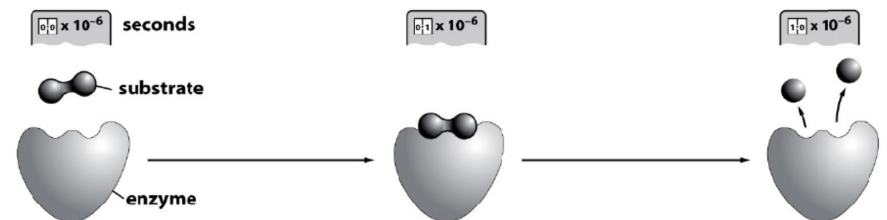


Biológiai időskála III.

gating of ion channels



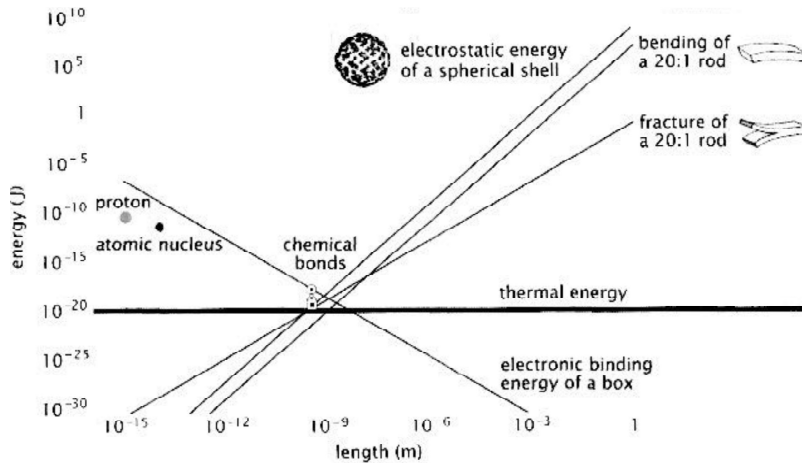
enzyme catalysis



Sót, fényabszorpció 10⁻¹⁵ s!

Energia- és méretskálák összefüggése

- “Determinisztikus” (kémiai, mechanikai, elektromágneses) vs. “termikus” energiák
- Termikus energia egysége: $k_B T = 4.1 \times 10^{-21} \text{ J} = 4.1 \text{ pNnm}$
- Releváns skálázódás - Boltzmann faktor: $\exp(-E_{\text{det}}/k_B T)$
- Termikus energia = $k_B T = 4.1 \times 10^{-21} \text{ J} = 4.1 \text{ pNnm} = 0.6 \text{ kcal/mol} = 2.5 \text{ kJ/mol}$ (biokémiai reakciók) = 25 meV (töltés mozgás)



DIFFÚZIÓ, POLIMÉREK, REPTÁCIÓ

Becslések, ökölszabályok a kvantitatív biológiában

- 1 dalton (Da) = 1 g/mol $\approx 1.6 \times 10^{-24} \text{ g}$
- 1 nM ≈ 1 molekula/baktérium $\approx 10^3$ - 10^4 molekula/eukarióta sejt
- 1 M $\approx 1/\text{nm}^3$
- Celluláris fehérjekoncentráció ≈ 2 -4 millió/ μm^3
- 1 mg-nyi, 1 kb hosszú DNS fragmentum $\approx 1 \text{ pmol} \approx 10^{12}$ molekula
- 1 M koncentrációnál a részecskék közötti átlagos távolság $\approx 1 \text{ nm}$
- Típusos aminosav tömege $\approx 100 \text{ Da}$
- Víz koncentrációja/sűrűsége $\approx 55 \text{ M} \approx 1000 \text{ kg/m}^3$
- Egy vízmolekula térfogata $\approx 0.03 \text{ nm}^3$
- Egy bázispár hossza (DNS mentén) $\approx 0.3 \text{ nm}$
- Egy bázispár térfogata $\approx 1 \text{ nm}^3$

- Diffúzió, diffúzió-vezérelt folyamatok
- Biopolimérek alakja
- Polimérek diffúziója. Reptáció. Folyamatok és egyensúlyok a citoplazma sűrűjében.

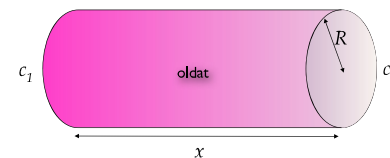
TERMODINAMIKAI ÁRAMOK

- 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)	$J_Q = -\frac{1}{\rho} \frac{\Delta \varphi}{\Delta x}$	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

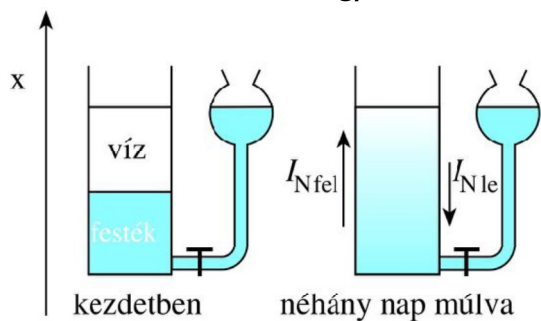


$$\frac{m}{tA} = J_n = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

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

DIFFÚZIÓ

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



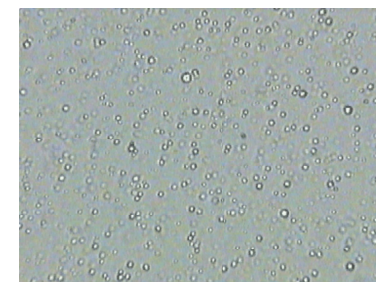
$$x^2 = 2Dt$$

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

A diffúzió mikroszkópikus manifestációja: Brown-mozgás

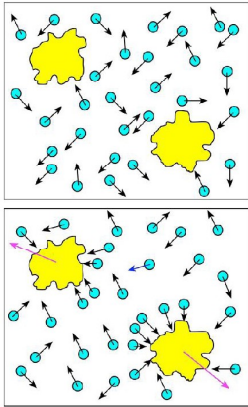


Robert Brown
(1773-1858)

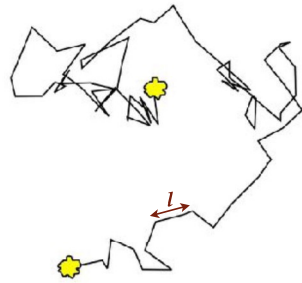


Tejben szuszpendált zsírcseppek
(csepp méret 0.5 - 3 μm)

Brown-mozgás



A mikroszkópikus részecske mozgása a molekulákkal való véletlenszerű ütközések következménye.



l = átlagos szabad úthossz (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: $D = \frac{1}{3} v l$

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.

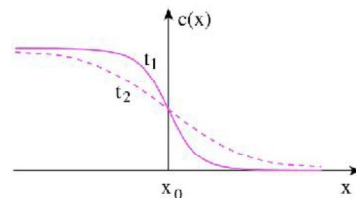
Anyagáram: $-\frac{\Delta J_n}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t}$

J_n = anyagáram
 x = távolság
 t = idő

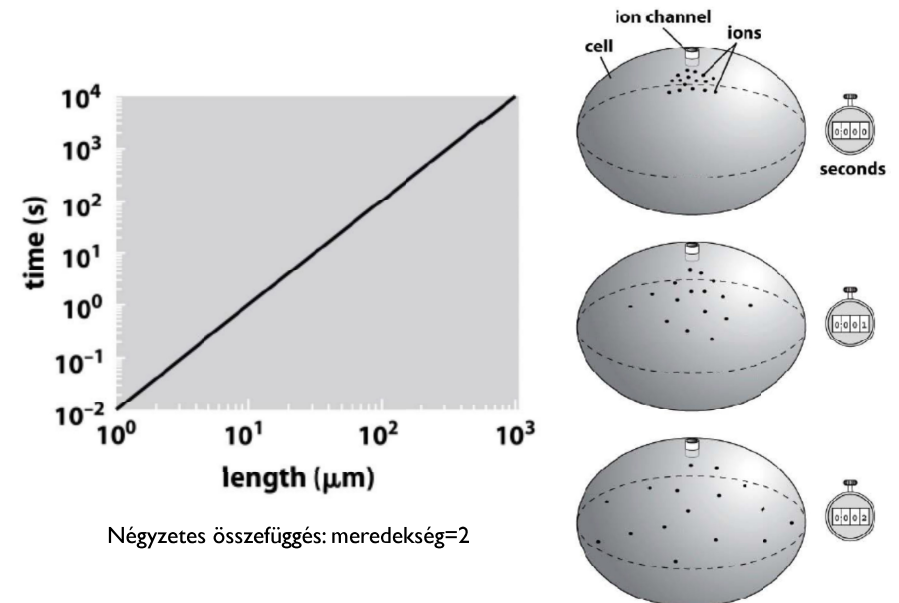
Diffúziós állandó: $D \frac{\Delta \left(\frac{\Delta c}{\Delta x} \right)}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t}$

D = diffúziós együttható.

A koncentrációesés idővel csökken (a határfelület "elkenődik")

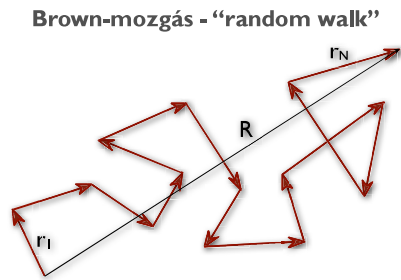


A diffúzió csak rövid méretsálán gyors



Négyzetes összefüggés: meredekség=2

A DIFFÚZIÓ ÉS BOLYONGÓ MOZGÁS KAPCSOLATA



“Négyzetgyök törvény”:

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

R = elmozdulás
N = elemi lépések száma
l = $|r_i|$ = átlagos szabad úthossz
r_i = elemi lépés
Nl = L = teljes út

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

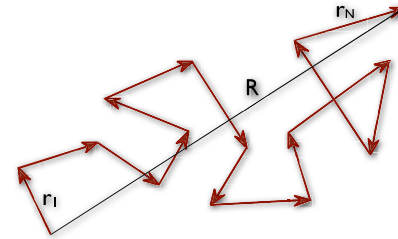
Teljes bolyongási idő: $t = N\tau$

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 = $|r_i|$ = 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.

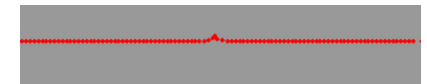
Makroszkópikus folyamat esetén: $\langle \Delta x^2 \rangle = 2Dt$.
 $\langle \Delta x^2 \rangle$ = átlagos négyzetes elmozdulás, D = diffúziós állandó, τ = diffúziós idő (megfigyelés időtartama)

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

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

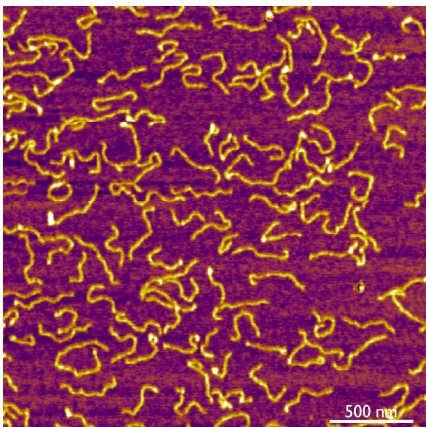
Nó a lánc konformációs entrópiája (elemi vektorok orientációs rendezetlensége).

Az entrópiamaximura törekvés miatt a polimerlánc rövidül.

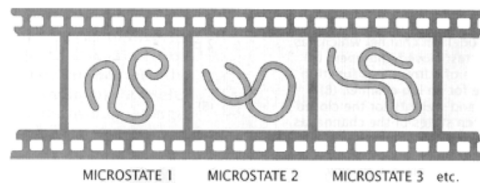


Polimerlánc “egyensúlyi” alakja

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

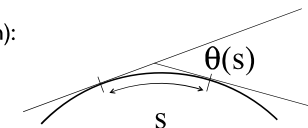


DNS molekulák atomerő mikroszkópos felvétele



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.

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

El = hajlítómerevség (E = Young modulus - anyagfüggő, I = keresztmetszet másodrendű nyomatéka - alakfüggő); k_BT = termikus energia

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

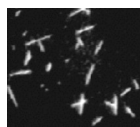
A polimerlánc lánc alakja és rugalmassága között összefüggés van

Merev lánc

$$L_p \gg L_c$$

(mm \gg 10 μ m)

Mikrotubulus

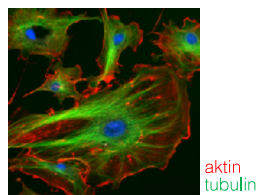


Szemiflexibilis lánc

$$L_p \approx L_c$$

(μ m \approx μ m)

Mikrofilamentum (aktin)

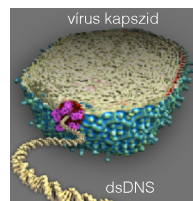
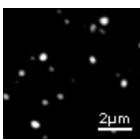


Flexibilis lánc

$$L_p \ll L_c$$

(50 nm \ll cm)

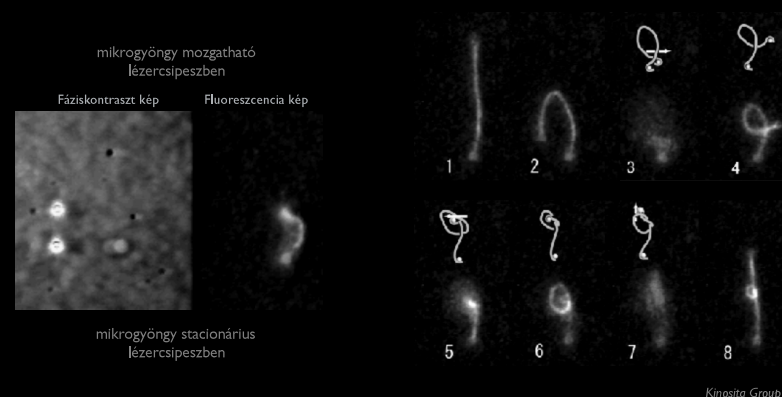
DNS



L_p = perzisztenciahossz
 L_c = kontúrhossz

Entropikus rugalmasság vizualizálása

Csomókötés egyetlen DNS láncre

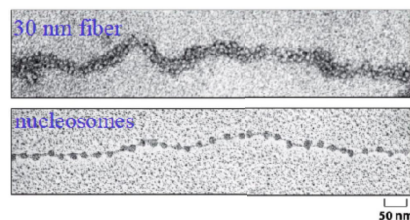


A humán genom fizikai mérete

A tanteremnyi modell-sejtre adaptálva:

	Idealizált sejt: 20 μ m oldalalú kocka	Analógia - Tanterem: 20 m oldalalú kocka
DNS vastagsága	2 nm	2 mm
DNA teljes hossza	2 m	2000 km
Perzisztenciahossz (L_p)	50 nm	5 cm
Átlagos vég-vég hossz $\sqrt{\langle R^2 \rangle} = \sqrt{L_c L_p}$	320 μ m	320 m
Girációs sugár (R_G) $R_G = R/\sqrt{6}$	130 μ m	130 m

- Tehát: az egyensúlyi alakú DNS nem férne el a sejtben.
- Teljesen kompakt DNS (elméletileg legkisebb) térfogata (2 mm alapterületű, 2000 km hosszú henger térfogata): **8 m³** (2 m élhosszúságú kocka)
- A DNS-t a sejtben **csomagolni** szükséges

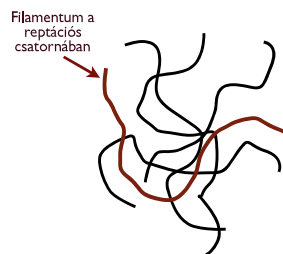


Egyedi nukleosóma partikulum: hiszton fehérjekomplex (oktamer) + ~1.6-ször köré tekeredett DNS

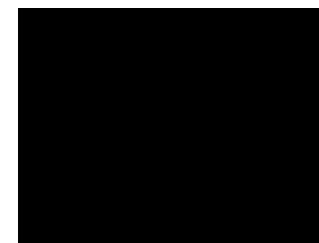
A DIFFÚZIÓ SPECIÁLIS ESETE: REPTÁCIÓ

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

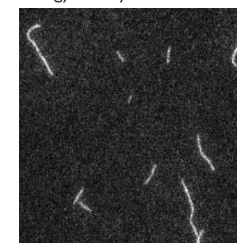
Polimér mátrix:
"entanglement" (összegabalyodás)



Indiana Jones and
Raiders of the Lost Ark



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 mozgékonyaság; 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.: számológép az átlagos négyzetes elmozdulással analóg.