Az élő sejt fizikai biológiája II.

Előadók: Agócs Gergely, Ferenczy György, Hegedűs Tamás, Kellermayer Miklós, Osváth Szabolcs

Diffúzió, polimerizáció, reptáció (Dr. Kellermayer Miklós)	szep. 13
Motorfehérjék, egyensúlytól távoli folyamatok (Dr. Kellermayer Miklós)	szep. 27
A termodinamika 2. főtétele kis rendszerekben, Evans-Searles fluktuációs tétel (Dr. Osváth Szabolcs)	okt. 4
Crooks fluktuációs tétel és Jarzinski egyenlőség (Dr. Osváth Szabolcs)	okt. 11
Molekuláris motorok működése (Dr. Osváth Szabolcs)	okt. 18
Motorfehérjék működése a mikroszkóp alatt - laborbemuatató (Dr. Agócs Gergely)	okt. 25
Fehérjék szerkezetének predikciója, szerkezeti adatok felhasználása adatbázisok segítségével (Dr. Hegedűs Tamás)	nov. 8
Fehérjék feltekeredésének és mozgásának modellezése (Dr. Hegedűs Tamás)	nov. 15
Fehérje-fehérje kölcsönhatások és fehérjehálózatok (Dr. Hegedűs Tamás)	nov. 22
Fehérje-ligandum kölcsönhatások és a kötődés termodinamikai jellemzése (Dr. Ferenczy György)	nov. 29
Fehérje-ligandum kötődés számítógépes modellezése I. Termodinamikai mennyiségek számítása (Dr. Ferenczy György)	dec. 6
Fehérje-ligandum kötődés számítógépes modellezése II. Termodinamikai mennyiségek becslése közelítő módszerekkel (Dr. Ferenczy György)	dec. 13

Diffúzió, polimérek, reptáció

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

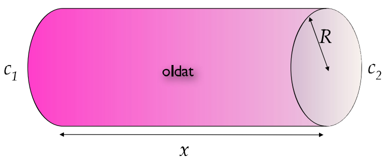
Termodinamikai áramok

- A természeti folyamatok ritkán reverzíbilisek.
- 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

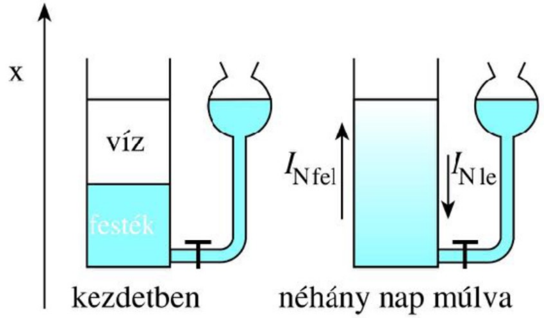


$$\frac{m}{tA} = J_n = -D\frac{\Delta c}{\Delta x}$$

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

DIFFÚZIÓ

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

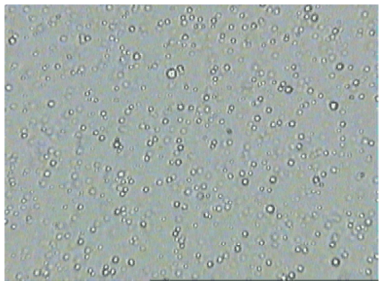


$$x^2 = 2Dt$$

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

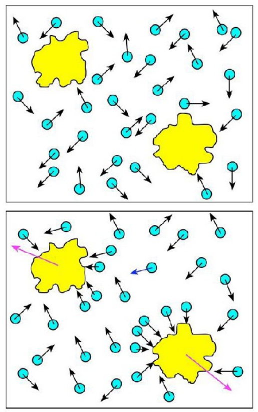
A diffúzió mikroszkópikus manifesztációja: Brown-mozgás

Robert Brown
(1773-1858)

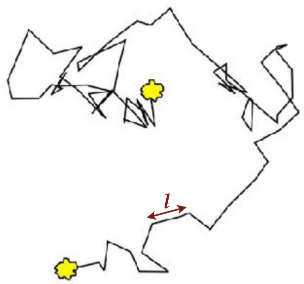


Tejben szuszpendált zsírcseppek
(csepp méret 0.5 - 3 μm)

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

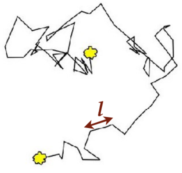
- *Fick I. törvénye:* anyagáram-sűrűség a kiváltó koncentrációesés és diffúziós állandó szorzata

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 koncentráció-esés időbeli változásának figyelembe vételével.

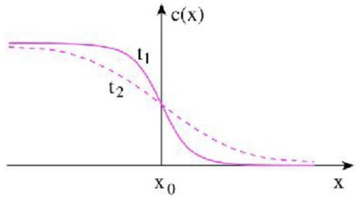
Anyagáram: $$-\frac{\Delta J_n}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t}$$

J_n = anyagáram
x = távolság
t = idő

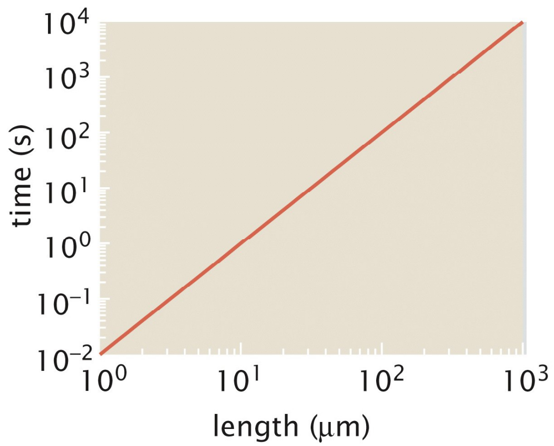
Diffúziós állandó: $$D\frac{\Delta\left(\frac{\Delta c}{\Delta x}\right)}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t}$$

D = diffúziós együttható.

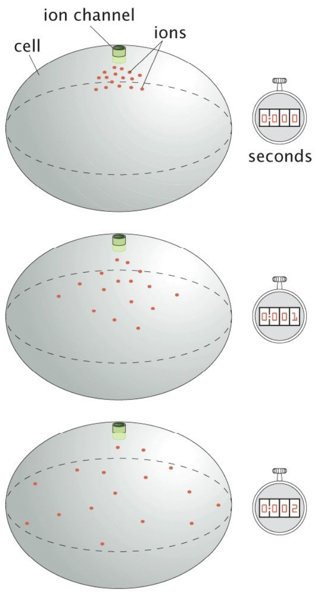
A koncentrációesés idővel csökken (a határfelület "elkenődik")



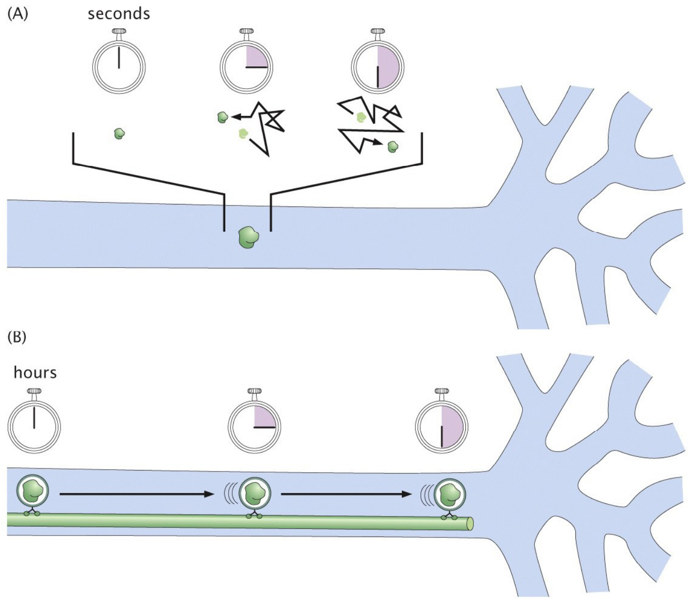
A diffúzió csak rövid méretsálán gyors



Négyzetes összefüggés: meredekség=2

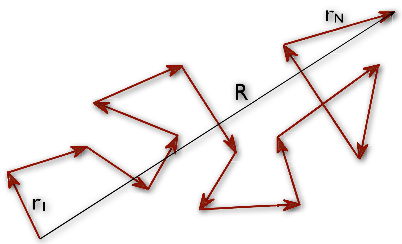


A diffúzió csak rövid méretsálán gyors



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

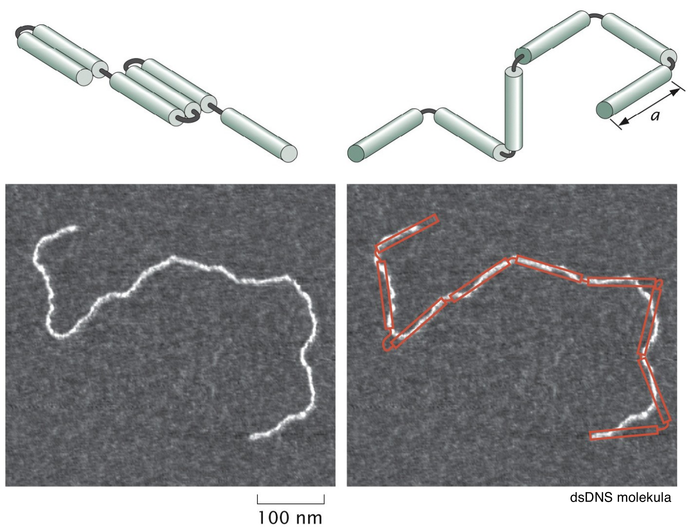
Átlagos részecske sebesség: $v = \dfrac{l}{\tau}$

Teljes bolyongási idő: $t = N\tau$

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

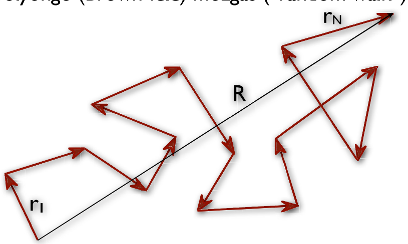
$$\langle R \rangle = \sqrt{Nl^2} = \sqrt{\frac{t}{\tau} l^2} = \sqrt{tvl} = \sqrt{3Dt}$$

A polimérek alakja a bolyongó mozgásra emlékeztet



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

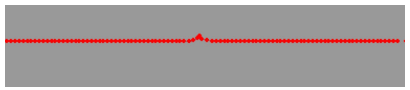
Bolyongó (diffúzióvezérelt) mozgás esetén R=elmozdulás, N= elemi lépések száma, L=teljes megtett út, és l=átlagos szabad úthossz.
Makroszkópikus folyamat esetén: **$\langle \Delta x^2 \rangle = 2D\tau$**.
$\langle \Delta x^2 \rangle$ = átlagos négyzetes elmozdulás, D = diffúziós állandó, τ = diffúziós idő (megfigyelés időtartama)

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

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

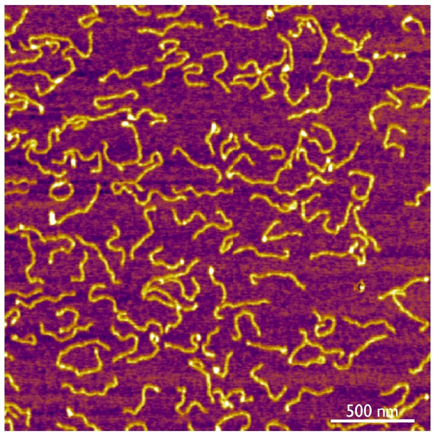
Nő a lánc konformációs entrópiája (elemi vektorok orientációs rendezetlensége).

Az entrópiamaximumra törekvés miatt a polimerlánc rövidül.

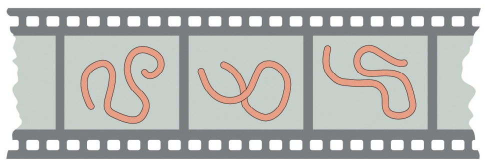


Polimerlánc "egyensúlyi" alakja

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

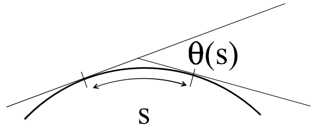


DNS molekulák atomerő mikroszkópos felvétele



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<<l_p, akkor $\langle \cos\theta(s) \rangle$ ~1, és a θ(s) szög 0 körül fluktuál.

Ha s>>l_p, akkor $\langle \cos\theta(s) \rangle$ ~0,

azaz θ(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.

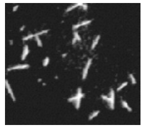
A polimerlánc lánc alakja és rugalmassága között összefüggés van

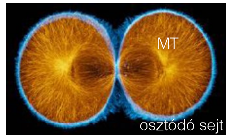
Merev lánc

$L_p >> L_c$

(mm >> 10 μm)

Mikrotubulus



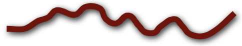


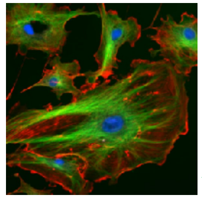
Szemiflexibilis lánc

$L_p \approx L_c$

(μm ≈ μm)

Mikrofilamentum (aktin)





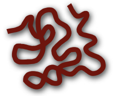
aktin
tubulin

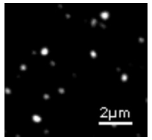
Flexibilis lánc

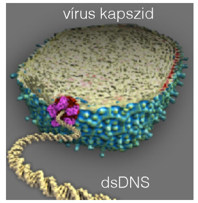
$L_p << L_c$

(50 nm << cm)

DNS







L_p = perzisztenciahossz

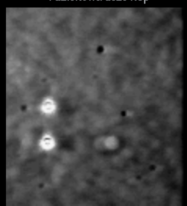
L_c = kontúrhossz

Entropikus rugalmasság vizualizálása

Csomókötés egyetlen DNS láncra

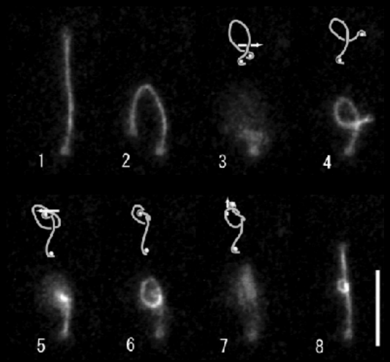
mikrogyöngy mozgatható lézercsipeszben

Fáziskontraszt kép



Fluoreszcencia kép

mikrogyöngy stacionárius lézercsipeszben



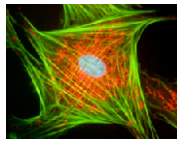
Kinosita Group

A humán genom fizikai mérete

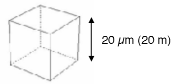
A tanteremnyi modell-sejtre adaptálva:

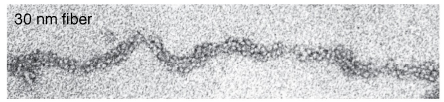
	Idealizált sejt: 20 µm oldalfalú kocka	Analógia - **Tanterem:** 20 m oldalfalú kocka
DNS vastagsága	2 nm	2 mm
DNA teljes hossza	2 m	2000 km
Perzisztenciahossz (L_P)	50 nm	5 cm
Átlagos vég-vég hossz $\sqrt{\langle R^2 \rangle} = \sqrt{L_c L_P}$	320 µm	320 m
Girációs sugár (R_G) $R_G = R/\sqrt{6}$	130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

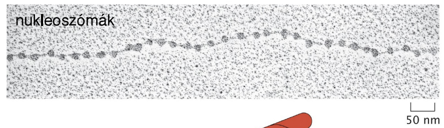
- Tehát: az egyensúlyi alakú DNS nem férne el a sejtben.
- Teljesen kompakt DNS (elméletileg legkisebb) térfogata (2 mm alapterületű, 2000 km hosszú henger térfogata): **8 m³** (2 m élhosszúságú kocka)
- A DNS-t a sejtben **csomagolni** szükséges

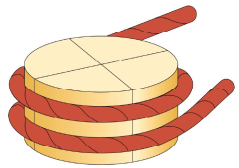


Egyszerűsített sejtmodell: kocka







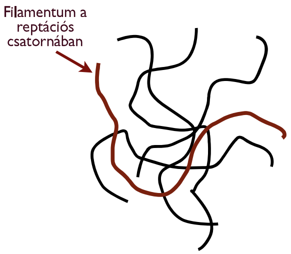


Egyedi nukleoszóma partikulum: hiszton fehérjekomplex (oktamer) + ~1.6-szor köré tekeredett DNS

A DIFFÚZIÓ SPECIÁLIS ESETE: REPTÁCIÓ

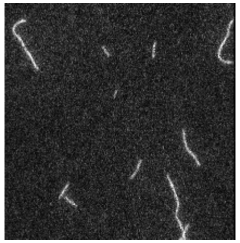
- *Reptáció:* polimér hálóban történő “kígyószerű”diffúzió. (*Reptilia*: hüllők)

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 mozgékonyság; kT = termikus energia

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

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