

Fysica van Leven ; Introductie Biofysica

John van Noort, Physics of Life Processes

Herexamen 6 Juli 2009, 13:45-16:30h

- Dit examen bestaat uit 4 opgaven op 2 bladzijden.
- Schrijf je naam en studentnummer op elk vel.
- Geef voldoende uitleg over je antwoord.
- Mis je een gegeven, maak dan een expliciete aanname.
- Je mag boek, aantekeningen en rekenmachine gebruiken.
- Succes!

1) E. coli groei

Onder optimale condities deelt een E. Coli cel elke half uur in twee identieke cellen. Direct na deling heeft elke cel een volume van ongeveer $1 \mu\text{m}^3$. 30% van het gewicht van E. coli bestaat uit eiwitten. De cel heeft een dichtheid die nauwelijks afwijkt van die van water. Een aminozuur heeft een gemiddelde massa van 100 Da en een omvang van 0.6 nm. Eiwitten bestaan gemiddeld uit 300 aminozuren.

a) Schat het aantal eiwitten in een E. coli cel op basis van deze gegevens.

b) Als er 10.000 ribosomen zijn in de cel, wat is dan de gemiddelde translatie snelheid van elk ribosoom?

Ribosomen zijn zo'n 20 nm in diameter.

c) Speelt inertia een belangrijke rol bij de verplaatsing van een ribosoom over het RNA of wordt de beweging door frictie gedomineerd?

Neem aan dat in de cel transcriptie net zo snel gaat als translatie (dit is zeker niet het geval in eukaryoten, maar is een redelijke aanname voor bacteriën). Verder zijn er zo'n 2500 RNA polymerases actief per cel.

d) Hoeveel eiwitten worden er geproduceerd per mRNA?

e) Wat is de RMS afstand tussen de uiteinden van het gemiddelde eiwit als deze een random kluwe zou vormen?

f) gebruik de RMS afstand van deze eiwitten als de straal van het ongevouwen eiwit. Wat zou het totale volume zijn? Wat concludeer je over de structuur van de eiwitten in E. coli?

2 Zenuwcellen

Zenuw cellen hebben lange axonen, dunne uitlopers van het cellichaam die elektrische signalen kunnen doorgeven. Hiervoor is een potentiaal verschil over het celmembraan nodig, dat in stand wordt gehouden door gebruik te maken van ATP.

De verandering van de concentratie c in het axon kan beschreven worden door:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} - Q \quad (1)$$

, waarin Q staat voor de ATP consumptie per volume eenheid, D de diffusie constante, x de afstand tot het cellichaam en t de tijd. De ATP consumptie is constant, net als de concentratie ATP in het cellichaam c_0 , (voor $x=0$). Aan het uiteinde van het axon ($x=L$) kan het ATP het axon niet verlaten.

a) Wat is de concentratie ATP als functie van de positie $c(x)$ in een stabiele situatie ($\partial c/\partial t = 0$)?

b) Laat zien dat er een maximale lengte waarvoor diffusie voldoende is om het axon van ATP te voorzien, en druk deze uit in Q , D en c_0 .

c) bepaal de snelheid waarmee het cellichaam ATP moet produceren om een stabiele situatie te bereiken. Deze zal afhankelijk zijn van de oppervlak van de doorsnede van het axon, A .

Mitochondriën bewegen met een snelheid van $5 \mu\text{m/s}$ en zijn zo'n 300 nm groot.

d) waarom kan de cel voor transport van ATP wel gebruik maken van diffusie, maar voor het transport van mitochondriën niet?

e) hoeveel ATP is er per seconde ten minste nodig om het transport van een zo'n mitochondrium uit te voeren?

3) OmpG

OmpG is een eiwit dat een het voor bacteriën gemakkelijker maakt om sucrose op te nemen. Het heeft een open, cilindervormige structuur, waarop een 'kap' zit die open en dicht kan. De cylinder is ongeveer 5 nm hoog en heeft een diameter van ongeveer 3 nm.

a) Waarom heeft een cel een speciaal 'pore' eiwit nodig om sucrose binnen te laten?

De open en de gesloten conformatie verschillen $2 k_B T$ in vrije energie, waarbij de gesloten conformatie de laagste energie heeft.

b) Welk percentage van de eiwitten staat gemiddeld open?

De kap beweegt 2 nm omhoog als het eiwit open gaat. Een onderzoeker wil het open en dicht gaan van het 'pore' eiwit direct meten. Hij doet dit door de tip van een Atomaire Krachts Microscop bovenop de kap te zetten en de hoogte van de tip in de tijd te volgen. De tip oefent een kracht van 1 pN uit.

c) Welk percentage open 'pore' eiwitten zal hij meten? Waarom verschilt dit van het antwoord op vraag 3b)?

De onderzoeker ziet dat de 'pore' gemiddeld 5 ms open staat.

d) Is de activeringsenergie van deze conformatie verandering groter of kleiner dan de verandering van vrije energie?

Een cel suspensie wordt in oplossing gebracht die 10 mmol lactose bevat. De volume fractie van de cellen is 10%. Lactose komt niet in de cellen voor, maar is net zo groot als sucrose, en kan dus door het 'pore' eiwit gewoon doorgelaten worden.

e) Geef op basis van de dimensies van het eiwit een minimale waarde voor de diffusie constante van lactose.

f) Zal het lactose ook daadwerkelijk de cellen in gaan? Bereken de verandering van vrije energie voor dit proces.

g) Bereken de permeabiliteit van het cel membraan voor lactose voor cellen met een diameter van 10 μm en een oppervlakte bezetting van het 'pore' eiwit van 5%.

h) Als de cellen het lactose niet verder verwerken, hoe lang duurt het voordat de concentratie lactose in de cellen de evenwichtsconcentratie tot op 10% is benaderd?

4) Lipide lagen

Twee ongeladen lipide membranen in een 1 mM BSA (een eiwit met een volume van 500 nm^3) oplossing worden bij elkaar gebracht.

a) Op welke afstand zullen de lagen elkaar voelen?

b) Wat is de verandering van vrije energie per μm^2 als de membranen tegen elkaar aanzitten? Zal dit spontaan gebeuren?

c) Wat verandert er als het BSA wordt weggelaten?

Aan het membraan wordt 10% vetzuren toegevoegd. Het membraan krijgt nu een negative lading van deze vetzuren. Neem aan dat alle vetzuren dissociëren, waardoor hun positieve ionen in de oplossing gaan.

d) Maak een schatting voor het oppervlak van een vetzuur en van een lipide molecuul en gebruik deze om de ladingsdichtheid van het oppervlak te berekenen (uitgedrukt in C/m^2).

e) Gebruik de Gouy-Chapman benadering voor een geladen oppervlak om de concentratie counterionen (uitgedrukt in Molair) direct boven het oppervlak te berekenen. (als je antwoord 4e niet hebt, gebruik dan $\sigma_q = -0.003 \text{ C}/\text{m}^2$).

f) Gebruik de oplossing de wet van Poisson-Boltzmann voor de potentiaal boven een geladen laag en de wet van Boltzmann om een uitdrukking af te leiden voor het concentratieprofiel $c_+(x)$ van de counterionen als functie van de afstand x tot de lipidelaag.