

M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem  
Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar  
Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék

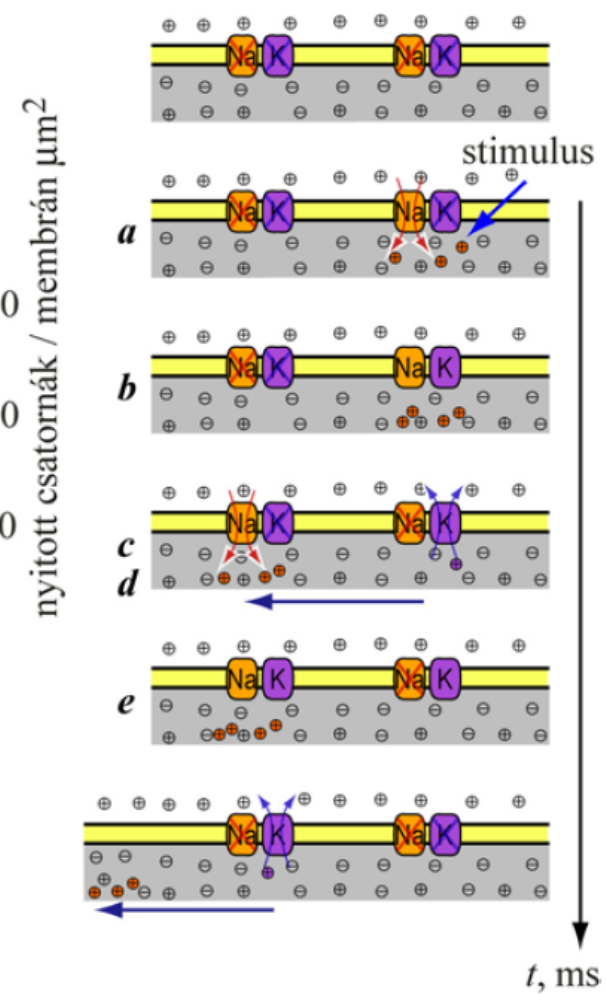
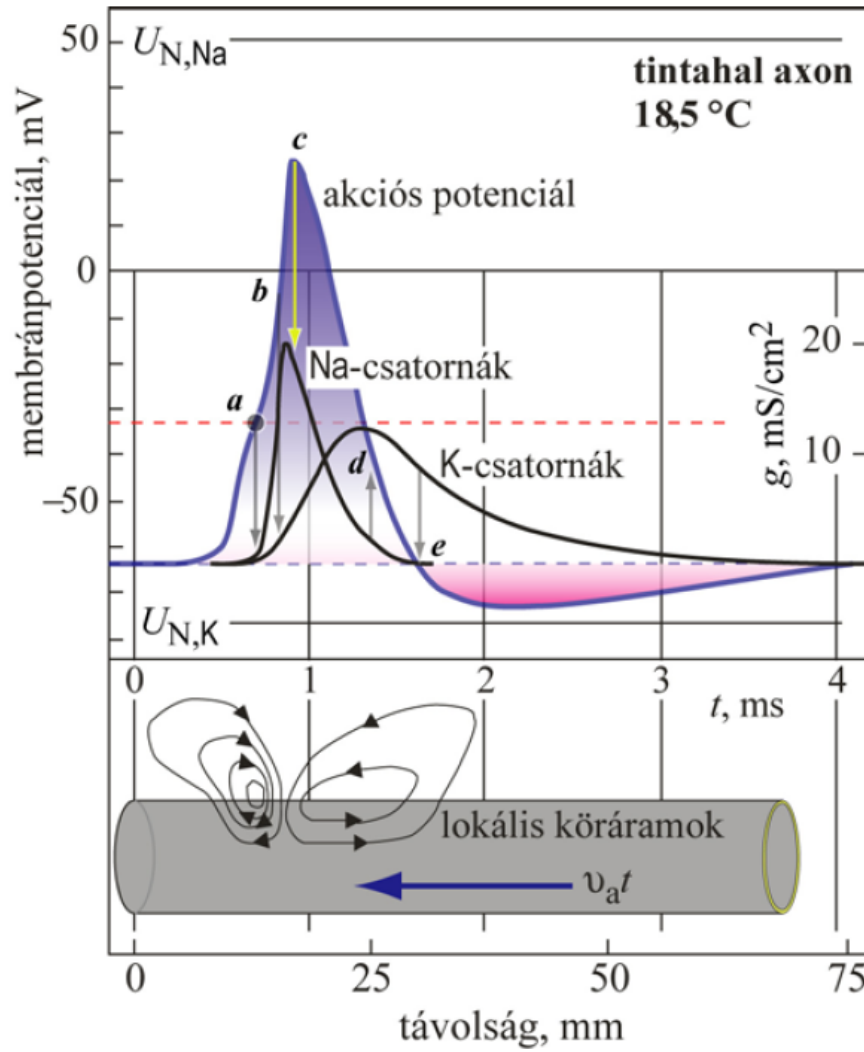
# **Biofizikai kémia**

## **6. előadás**

Gyarmati Benjámín

2019. október 30.

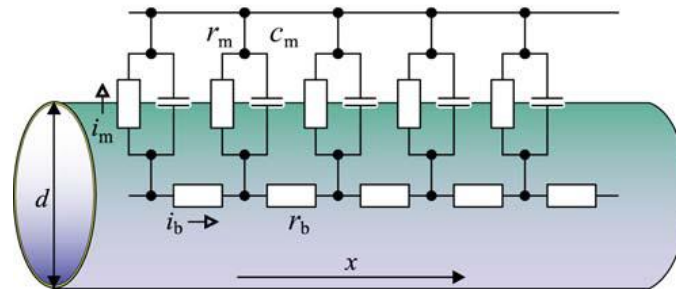
# Akciós potenciál jelalak



# Vezetési modell

Sorba kapcsolt ellenállás-kapacitás áramkörök (RC)

Kívül (extracellulár tér) ideális vezető, belül (axoplazma) véges ellenállás



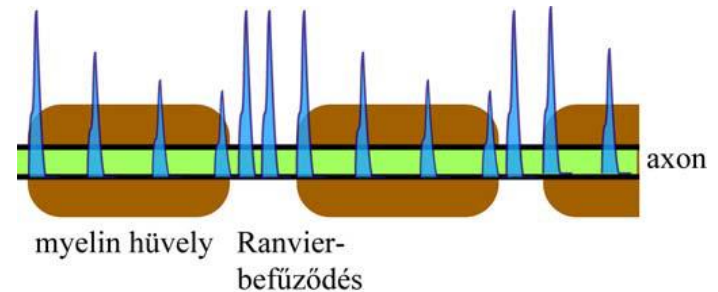
$$v_a = \sqrt{\frac{Kd}{4\rho_b C_{A,m}}} \sim \sqrt{d}$$

Számított:

$$v_a = 18,8 \text{ m/s}$$

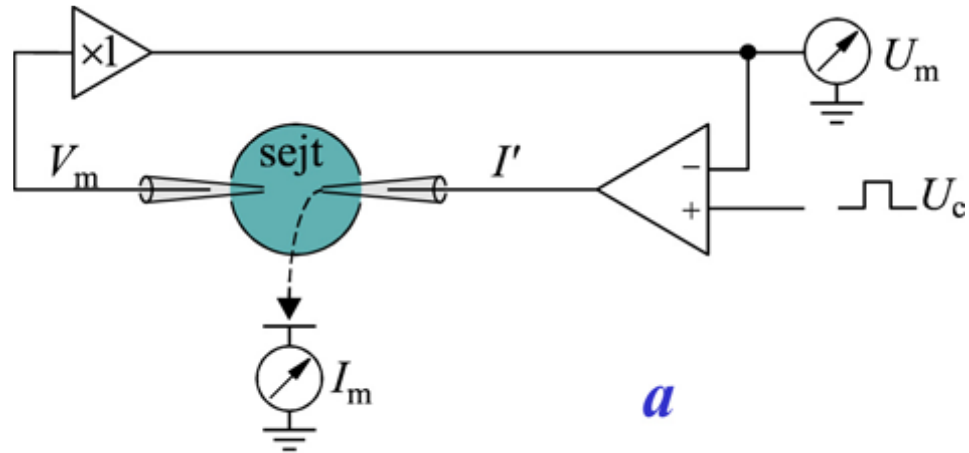
Kísérleti:

$$v_a = 21,3 \text{ m/s}$$

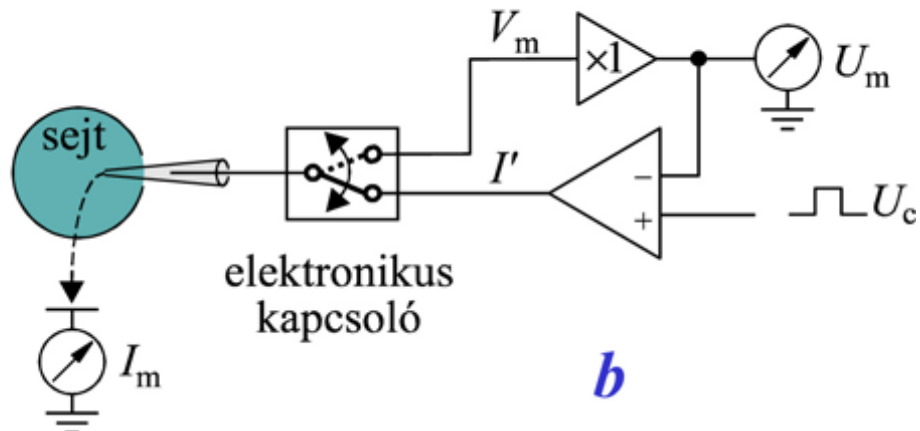


# Mérés mikroelektródákkal

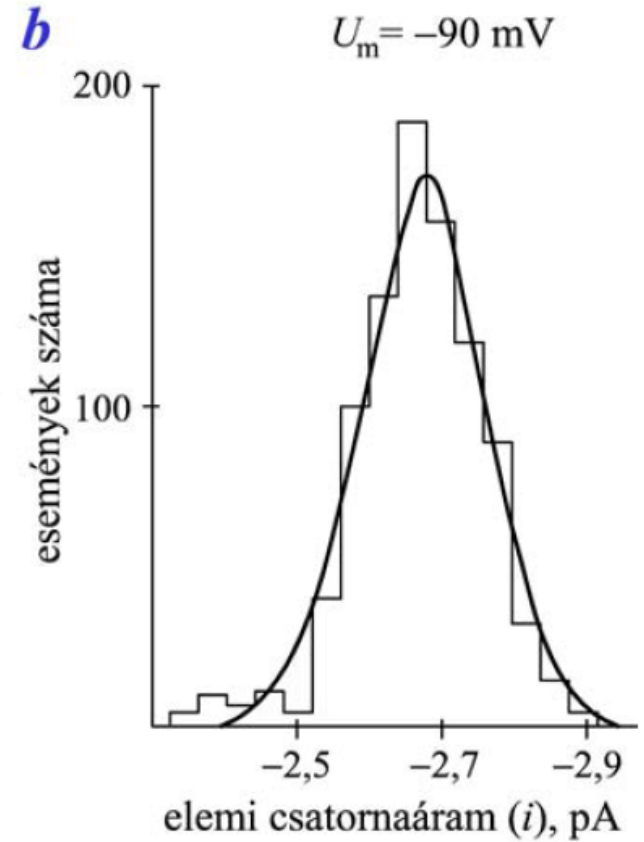
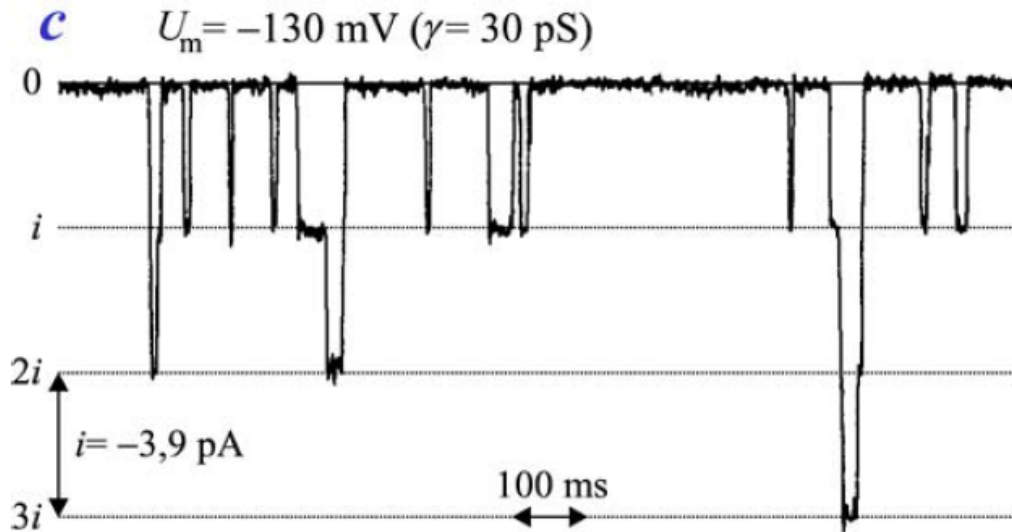
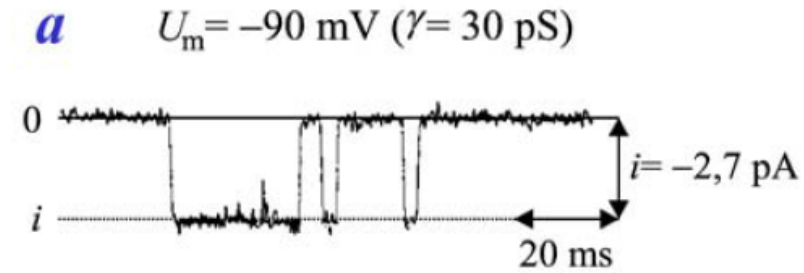
Kételektródos mérési elrendezés (áram és feszültségmérés)



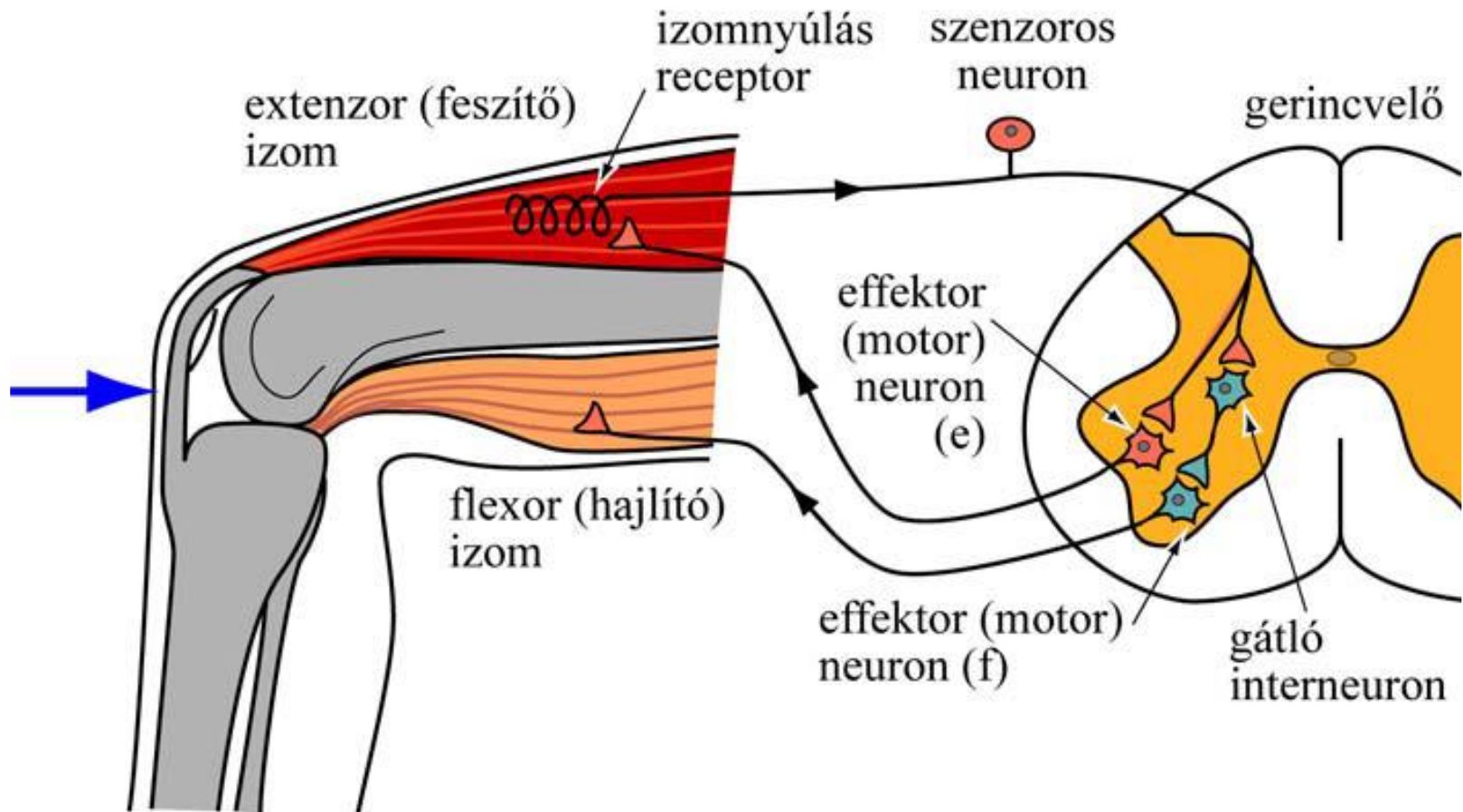
Egyelektródos mérési elrendezés



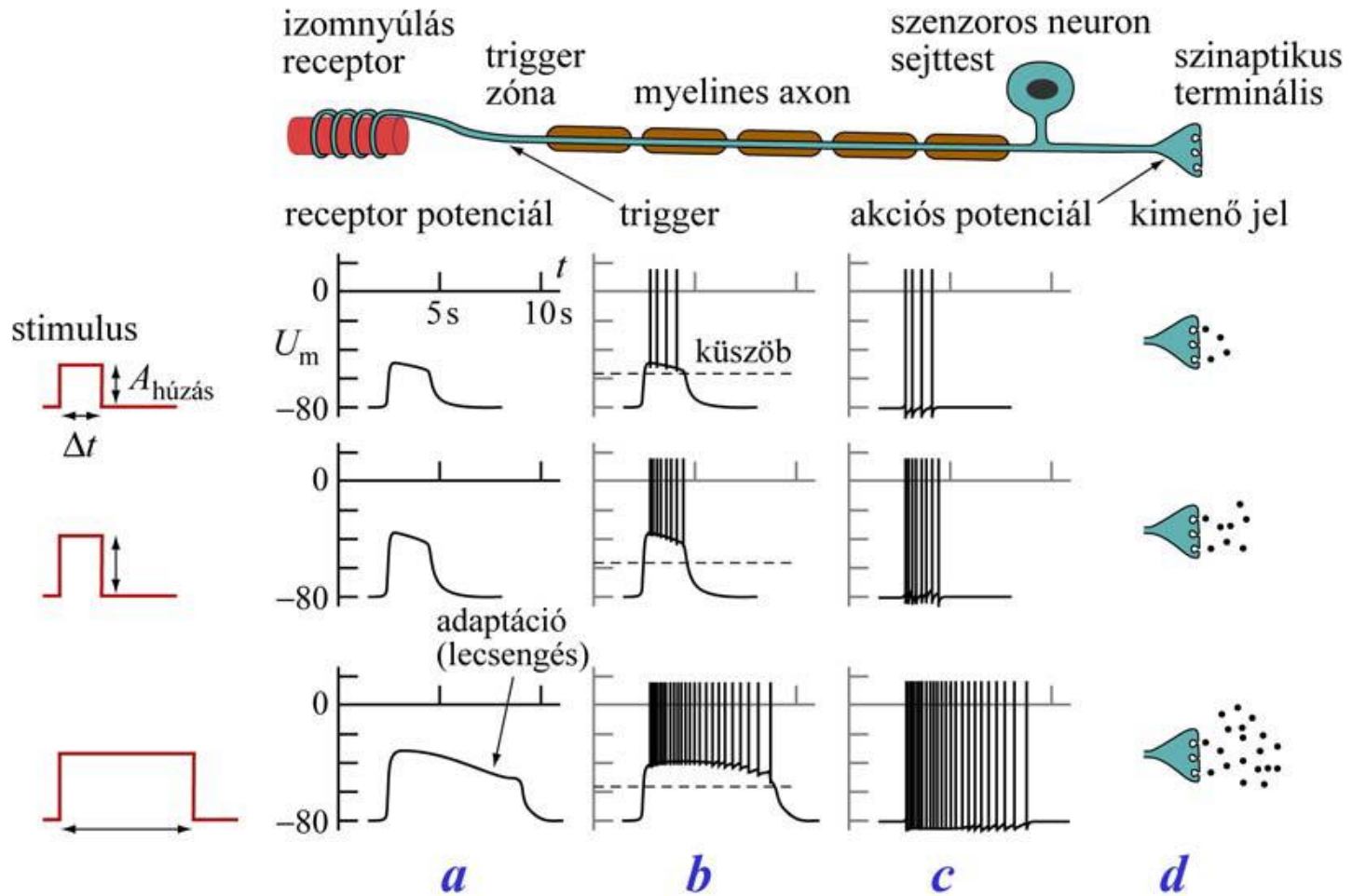
# Egyedi ioncsatornák vizsgálata



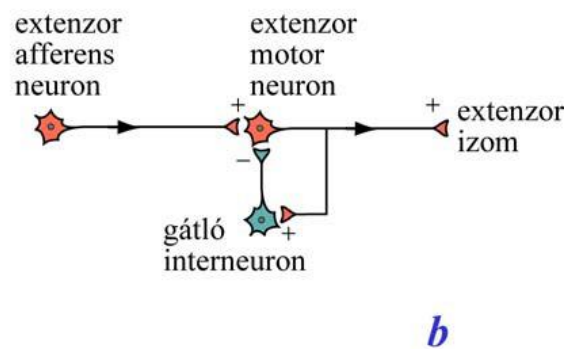
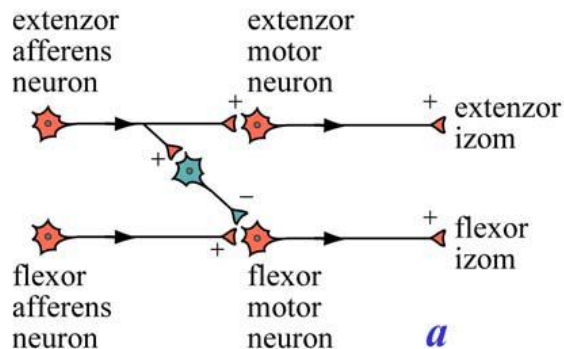
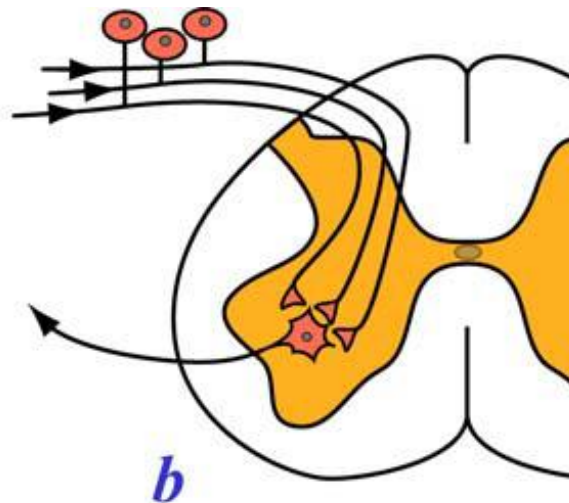
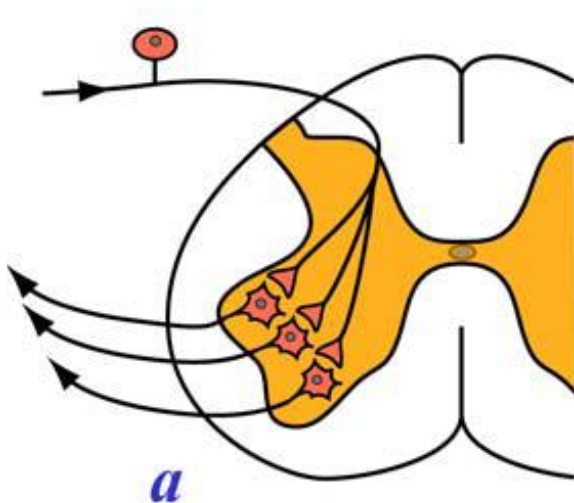
# Térdreflex



# Reflexkomponensek



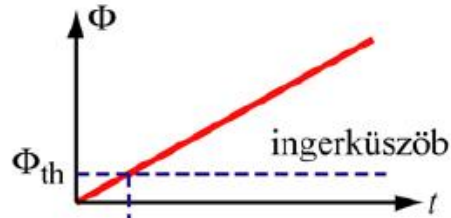
# Idegi kapcsolatok, visszacsatolás





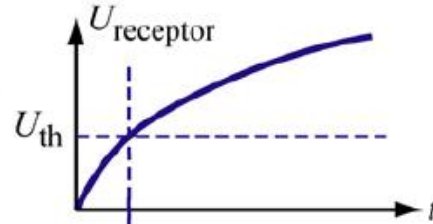
# Az érzékelés folyamata

**fizikai inger**  
(pl. hang)



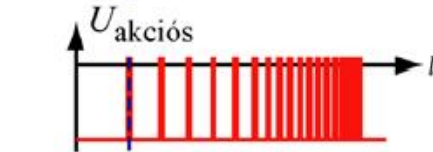
$$\Delta\phi = \phi_r - \phi$$

**érezkszerv**  
receptor  
(pl. fül)  
**modalitás**  
(érezkelésmód:  
pl. hallás)



$$\Delta\phi = k\phi$$

**idegrost**  
(idegi vezetés)



$$\Delta\psi = k \frac{\Delta\phi}{\phi} \rightarrow \psi = k \lg \frac{\phi}{\phi_0}$$

**ézőközpont**  
(agyban)



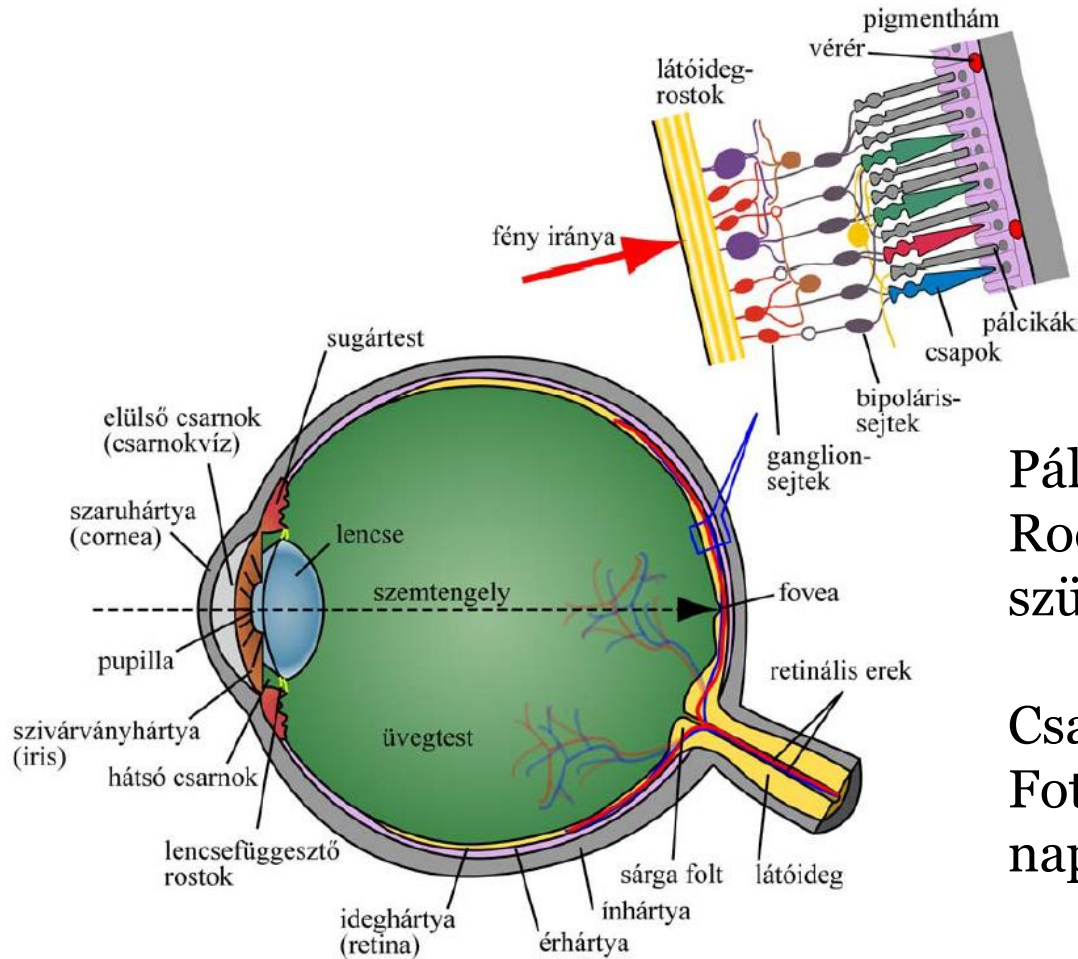
$$\frac{\Delta\psi}{\psi} = k \frac{\Delta\phi}{\phi} \rightarrow \psi = k \left( \frac{\phi}{\phi_0} \right)^n$$

**pszichofizikai érzet**  
(felismerése,  
értelmezése:  
asszociáció,  
percepció)



$N < 1$ : kompresszív  
 $N > 1$ : expanszív

# A legfontosabb érzékszerv: a szem



**Pálcikák:**  
Rodopszin  
szürkületi látás,  $10^{-9}$ ..10 lux

**Csapok:**  
Fotopszin  
nappali és színes látás,  $1$ .. $10^5$  lux

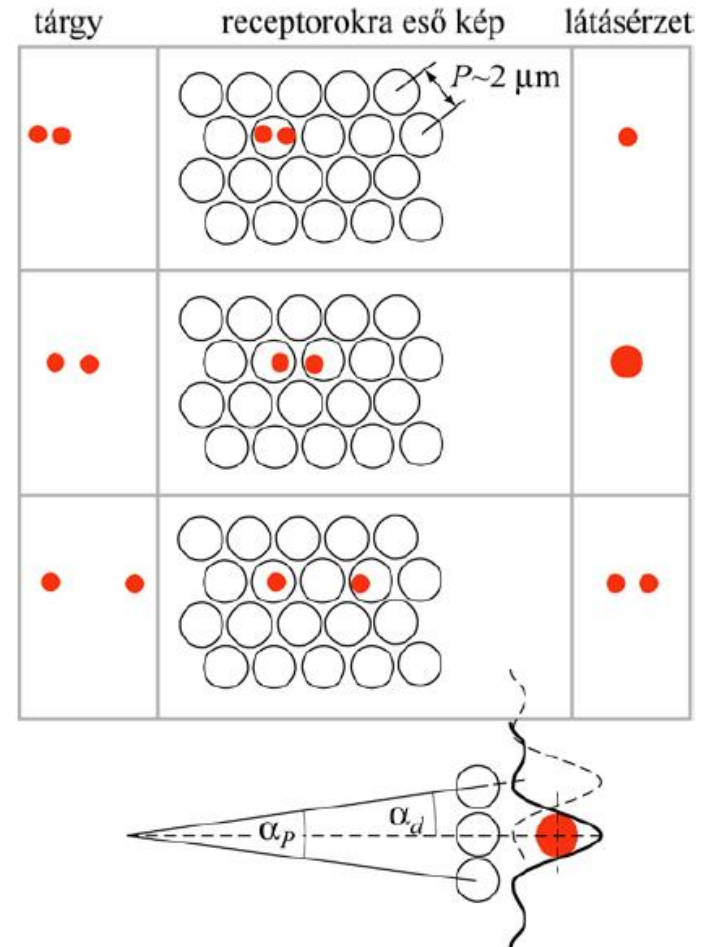
# A szem felbontóképessége

Hullámoptikai felbontás:

$$\alpha_d(\lambda, d) = 1,22 \frac{\lambda}{d_{\text{pupilla}}} \rightarrow \begin{cases} \alpha_d(800 \text{ nm}, 2 \text{ mm}) \approx 1,76'' \\ \alpha_d(550 \text{ nm}, 4 \text{ mm}) \approx 0,60'' \end{cases}$$

Biológiai felbontás (mintavételezés):

$$\alpha_p(2P, K) = \frac{2P}{K} \rightarrow \alpha_p(4 \mu\text{m}, 17 \text{ mm}) \approx 0,85''$$

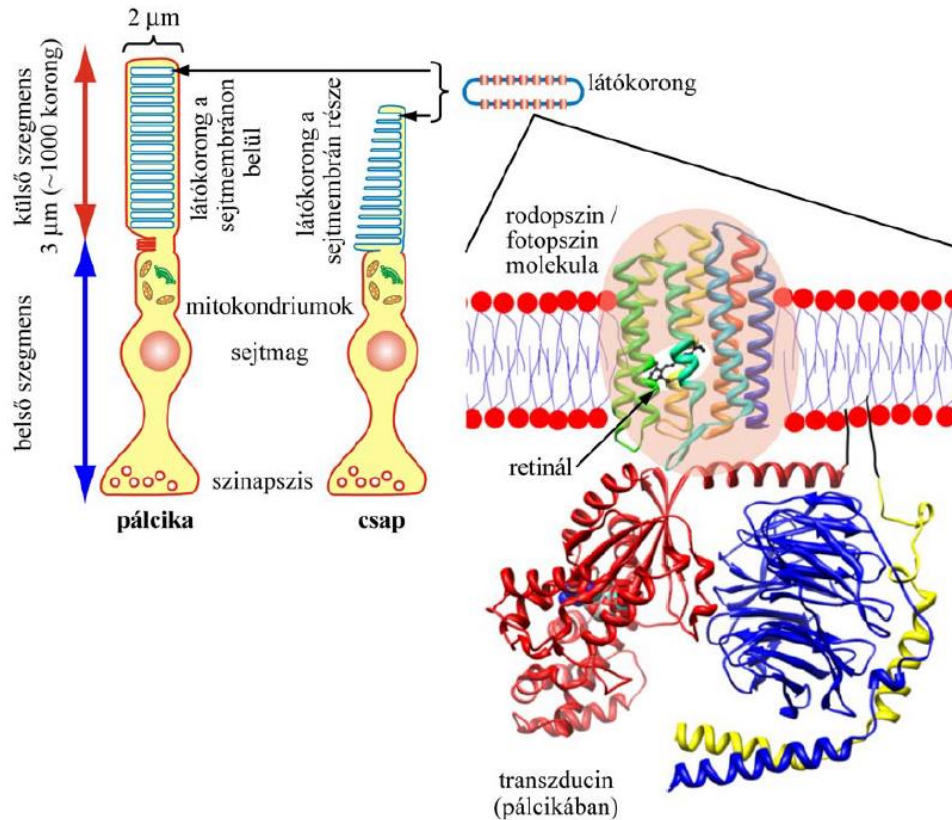


# Látásérzet kialakulása

1-2 foton is kivált ingerületet, de látásérzet: min. 25 pálcika

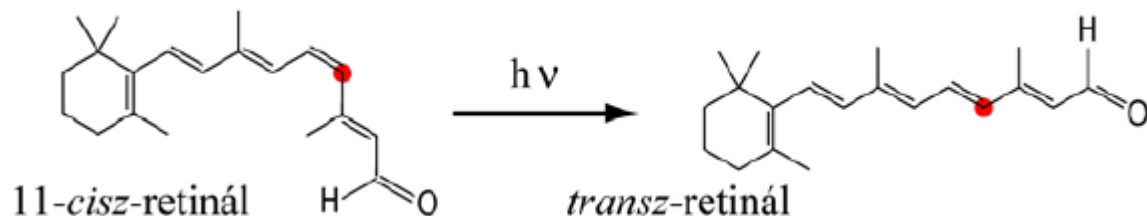
Csapok: nagyobb ingerküszöb, rövidebb integrálás, kisebb konvergencia

– nagyobb felbontás. Közvetlen neurotranszmitter szekréció



# A látás biofizikája

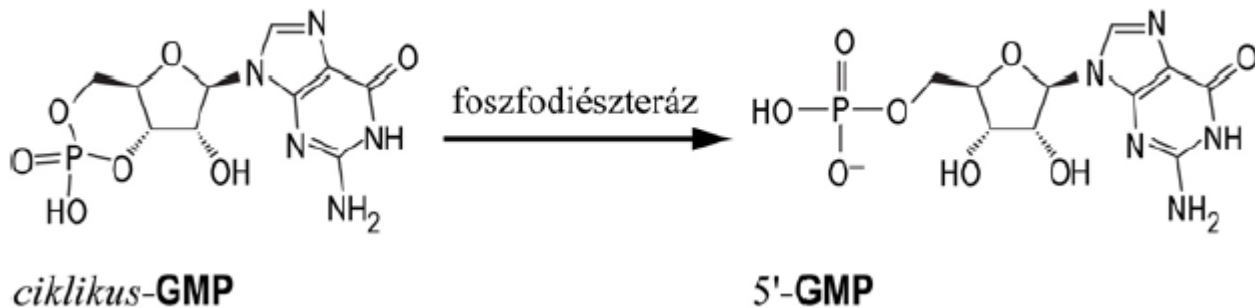
1. Foton  $\rightarrow$  retinal izomerizáció, opszin kötődés megszűnik, enzimatis hely aktiválódik



2. GTP-kötő fehérjék aktiválása

3. Ciklikus foszfodiészteráz bekapcsolása

4. cGMP hidrolízise

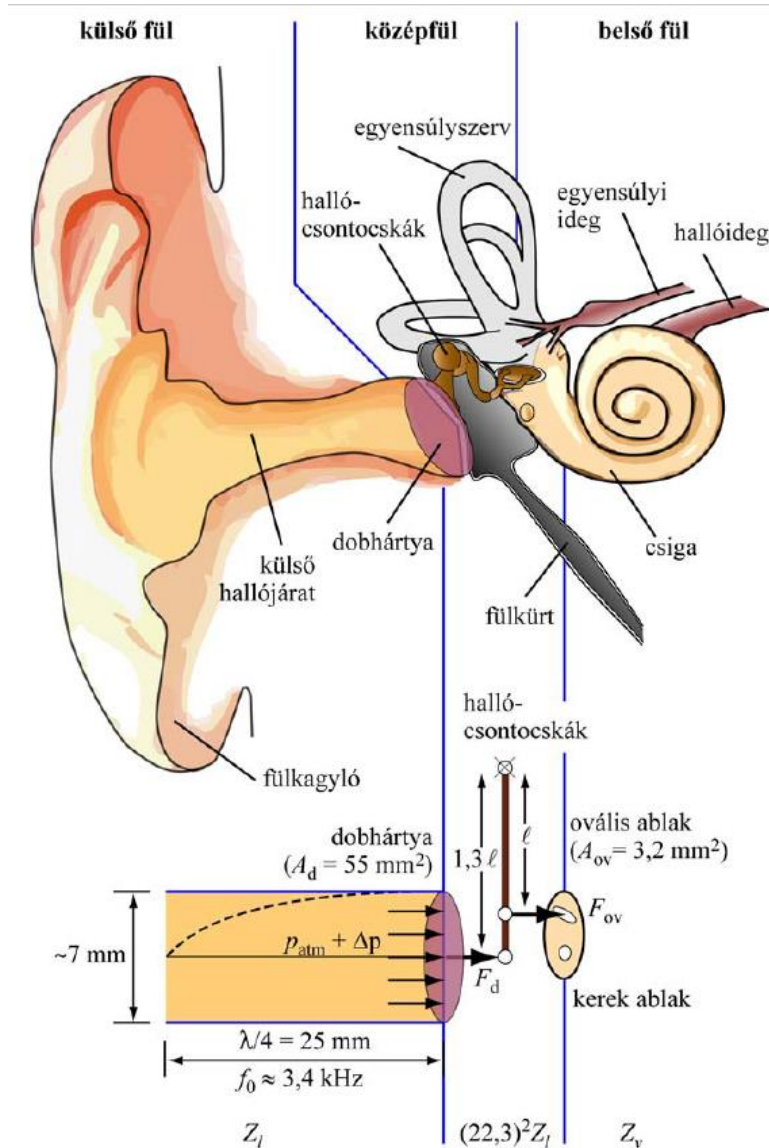


5. Nátrium-csatorna zárása, hiperpolarizáció

6. Gátló neurotranszmitterszint csökkenése

Negatív visszacsatolás:  $\text{Ca}^{2+}$  csatornán keresztül

# A fül felépítése



Külső fül: hanggyűjtés

Középfül: mechanikai erősítés

Belső fül (csiga): érzékelés

Dobhártya: egyik végén zárt rezonátor

$$L = \frac{\lambda_0}{4} \rightarrow f_0 = \frac{v_a}{\lambda_0} = \frac{v_a}{4L}$$

$$\left. \begin{array}{l} v_a \approx 332 + 0,6T_{[^\circ\text{C}]} \\ T = 36 \text{ } ^\circ\text{C} \end{array} \right\} \rightarrow f_0 \approx 3,5 \text{ kHz}$$

# A hangra jellemző fizikai mennyiségek

Hangnyomás (hallásküszöbnél az amplitudó 10 pm körül):

$$p_{[\text{dB}]} = 20 \log \frac{\Delta p}{p_0}, \quad \Delta p = p - p_{\text{atm}}, \quad p_0 = \Delta p_0 = 20 \mu\text{Pa}$$

Akusztikus intenzitás (Ohm-törvény analógia):

$$I_a = \frac{\Delta p^2}{Z_a}, \quad I_{a,[\text{dB}]} = 10 \log \frac{I_a}{I_{a,0}}$$

$$Z_a \equiv \rho_0 v_a.$$

$$I_{a,0} = 10^{-12} \text{ W/m}^2 \text{ (1 kHz-en)}$$

Fájdalomküszöb: 120 dB (12 nagyságrend átfogható!)

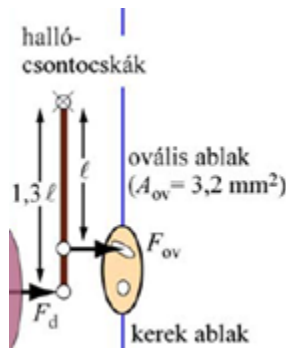
# Reflexió, passzív erősítés

Közegváltás a középfül és belső fül között (levegő-folyadék):

$$\frac{Z_l(35^\circ\text{C})}{Z_v} = \frac{1,144\text{kgm}^{-3} \cdot 350\text{ms}^{-1}}{10^3\text{kgm}^{-3} \cdot 1440\text{ms}^{-1}} = \frac{400}{1,44 \cdot 10^6}$$

$$R_a = \frac{I_{l,\text{refl}}}{I_{l,\text{be}}} = \left( \frac{Z_v - Z_l}{Z_v + Z_l} \right)^2 = 0,9989;$$

$$1 - R_a = 0,0011.$$



Passzív nyomáserősítés:

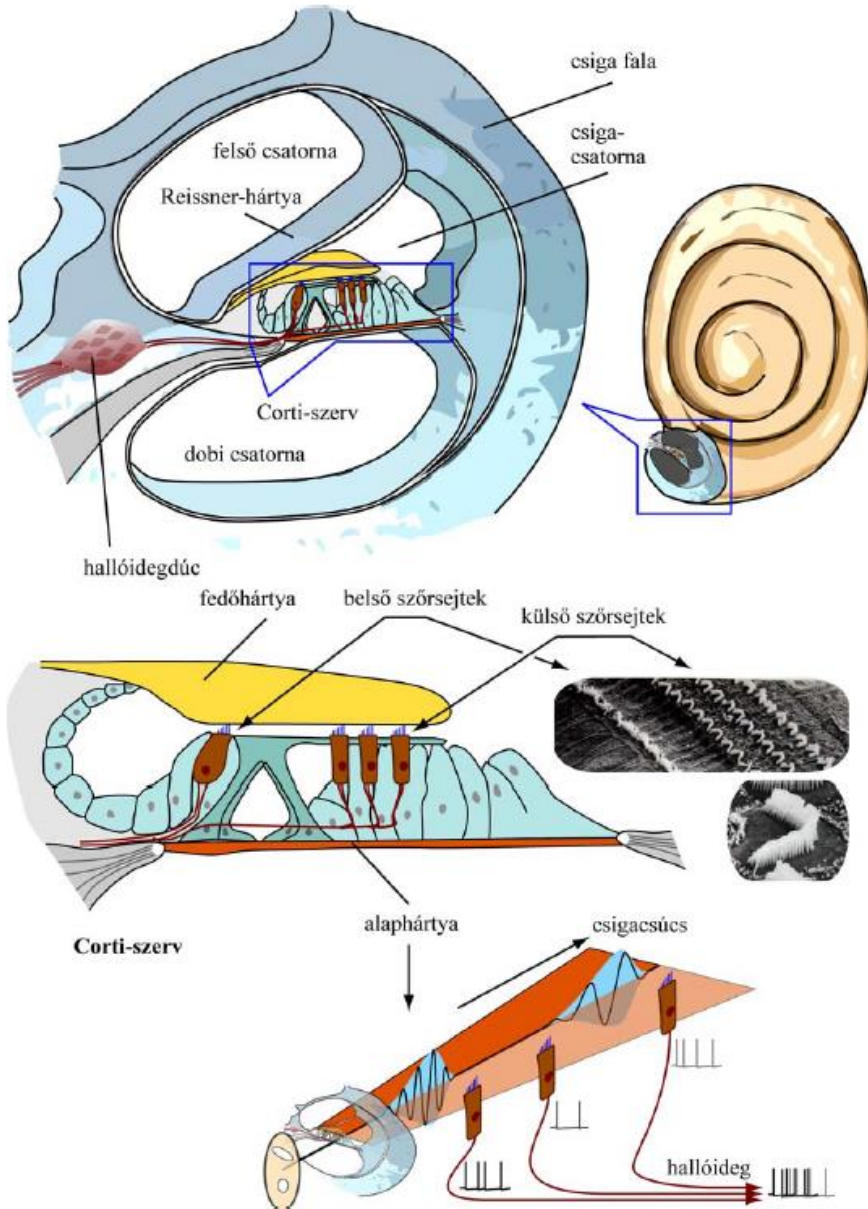
$$p_v = \frac{F_{ov}}{A_{ov}} = \frac{1,3\Delta p A_d}{A_{ov}} = 22,3\Delta p$$

$$\frac{I_v}{I_l} = \frac{p_v^2 / Z_v}{\Delta p^2 / Z_l} = 0,138$$

125-szörös erősítés (1 kHz-es kiemelés, 20 kHz-es levágás)

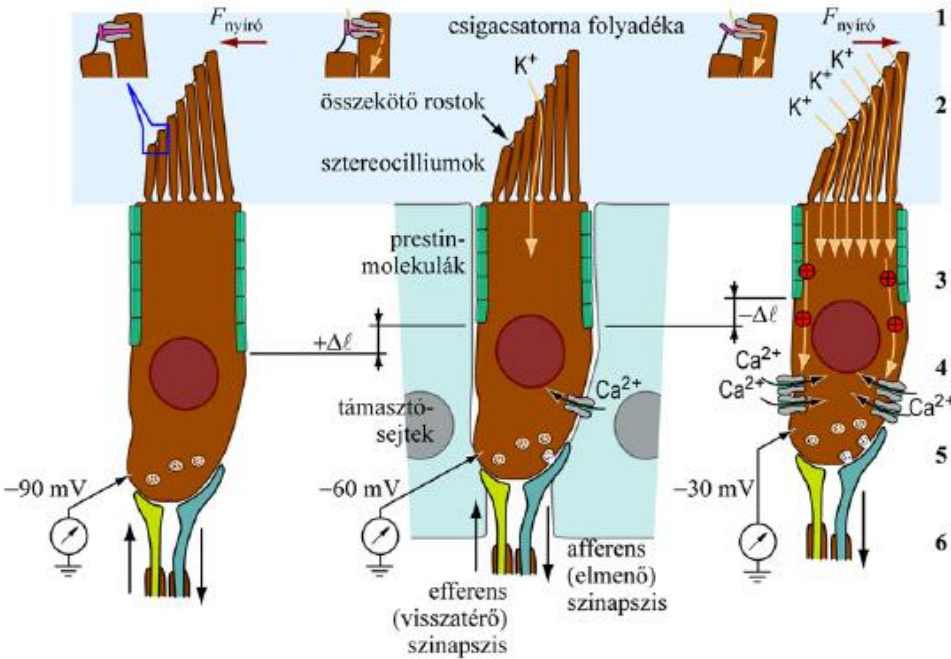


# Corti-szerv

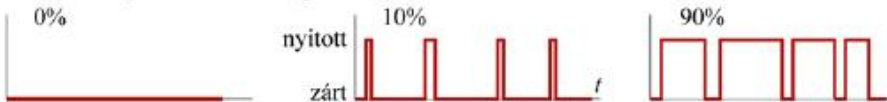


Rezgés: Reissner-hártya-  
elmozdulás, alaphártya, kerek  
dobi ablak nyomás

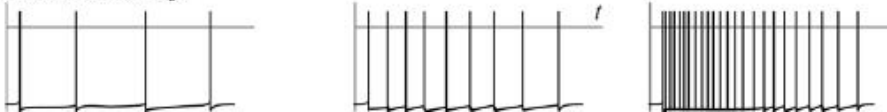
# A hallás biofizikája



(1)  $K^+$ -csatorna nyitási valószínűsége



(6) tüzelés frekvenciája

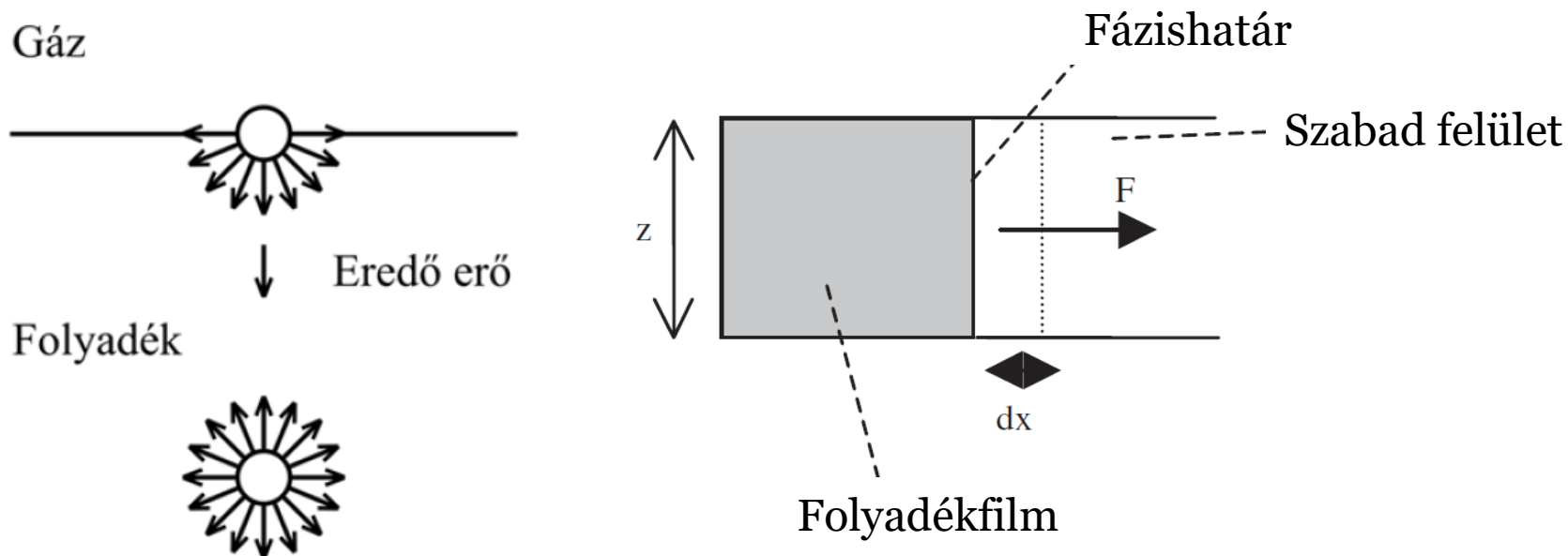


1. Szőrök megfeszülése
2. Deformáció-vezérelt  $K^+$ -csatornák nyitása
3. Depolarizáció ( $K^+$ -ion beáramlás)
4. Feszültségvezérelt  $Ca^{2+}$ -ioncsatornák nyitása ( $Ca^{2+}$ -beáramlás)
5. Serkentő neurotranszmitterek kibocsátása
6. Serkentő neuron depolarizáció, akciós potenciál kialakulása

Prestin-konformációváltozás:  
50-szeres erősítés érhető el

# Kölcsönhatások termodinamikája: felületek

Felületi feszültség (felületi szabadenergiaként is értelmezhető):



$$w = \gamma \Delta A \quad \gamma = \frac{F}{2x}$$

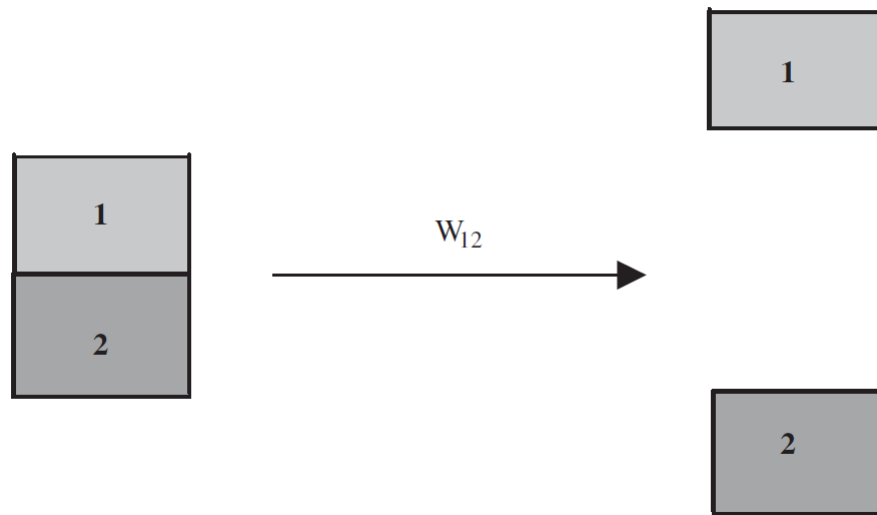
$$dw = Fdx = \gamma 2x dx = \gamma dA$$

$$dG = \gamma dA \quad \gamma = \left( \frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T,P}$$

# Adhézió

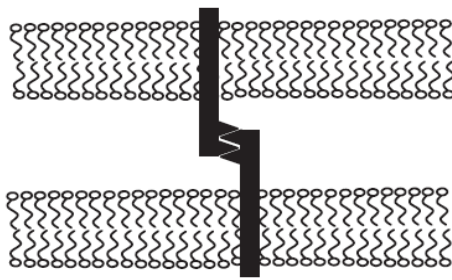
Termodinamikai reverzibilitás esetén a felületek elválasztásához szükséges munka

$$W_{AB} = \gamma_A + \gamma_B - \gamma_{AB}$$

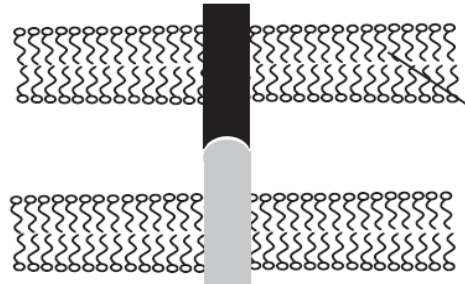


Biológiai (és egyéb valós) rendszerekben irreverzibilis, disszipatív folyamatok is vannak, a valós munka nagyságrendekkel nagyobb lehet

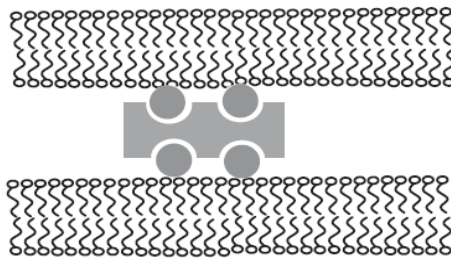
# Adhézió a sejtekben



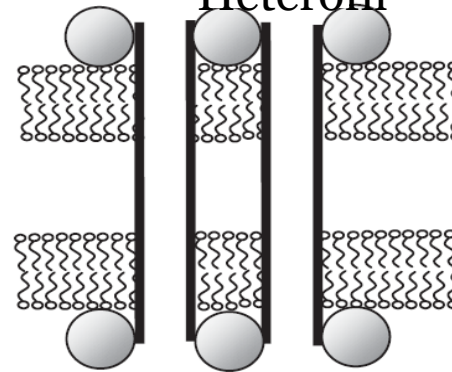
Homofil



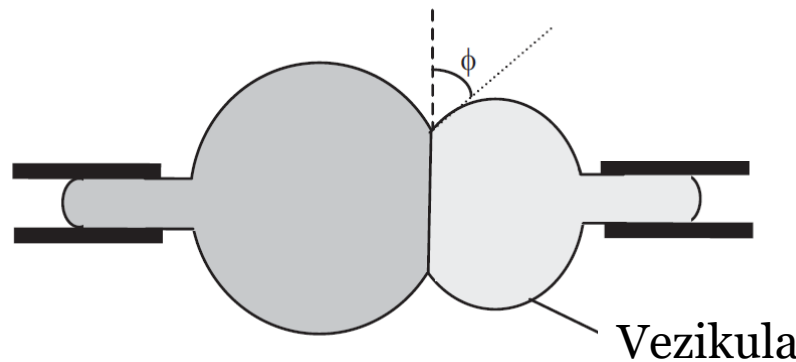
Heterofil



Extracelluláris fehérje



„Gap junction”

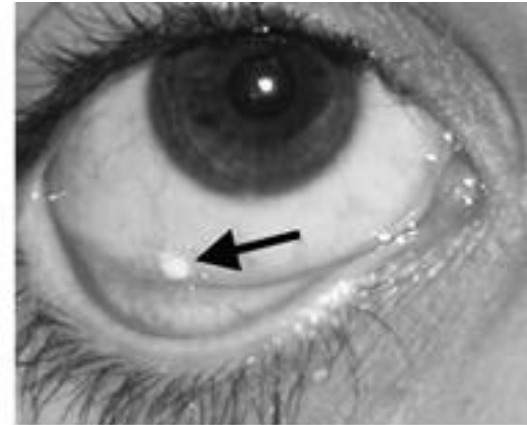


Vezikula

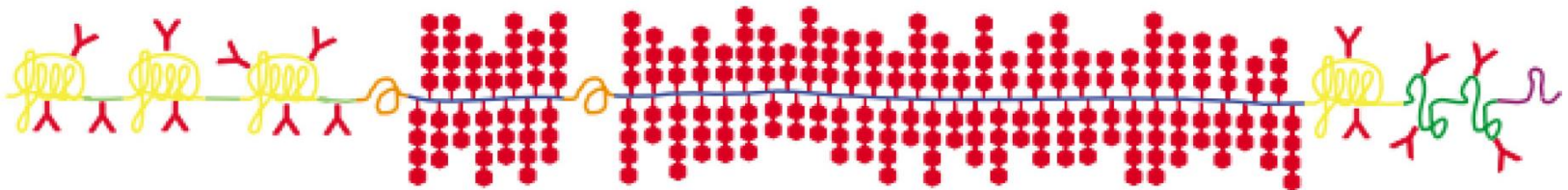
# Nedvesedés, kenés: mucin

Mucin előfordulása:

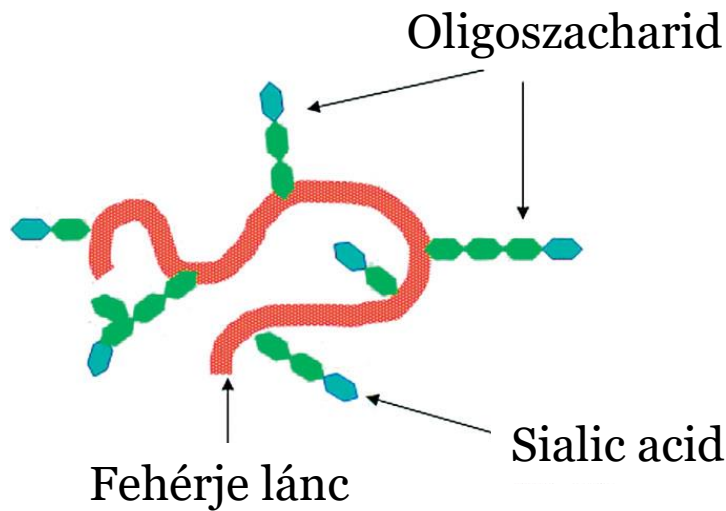
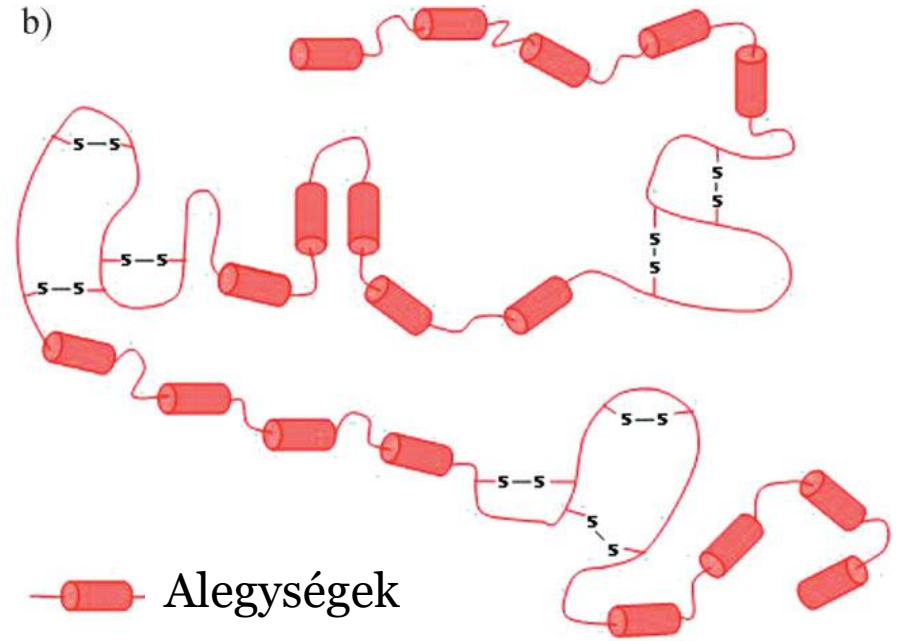
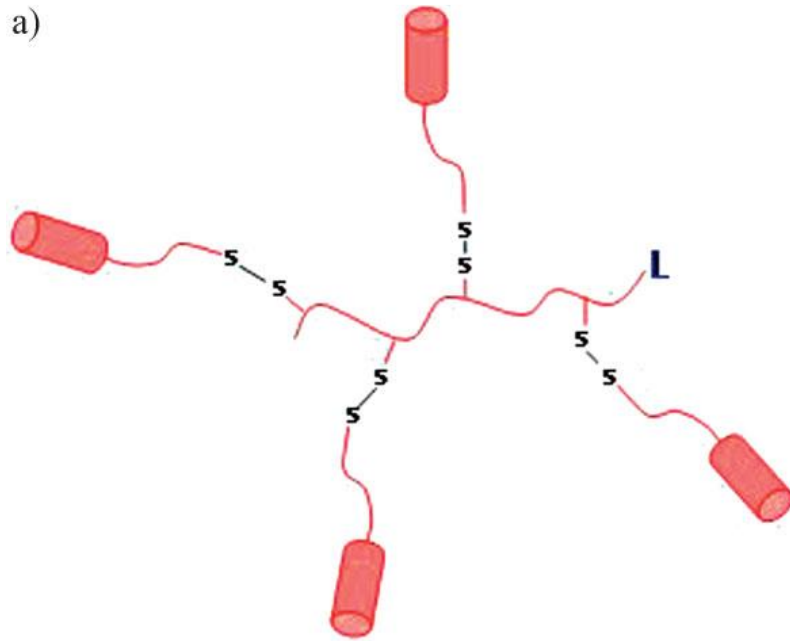
- Gastrointesztinális rendszer
- Szájüreg
- Orrnyálkahártya
- Szem
- Tüdő stb.



Nagy molekulatömegű fehérje (tipikusan 0.2-50 MDa)  
PTS régió (proline, threonine and serine) glikozilált



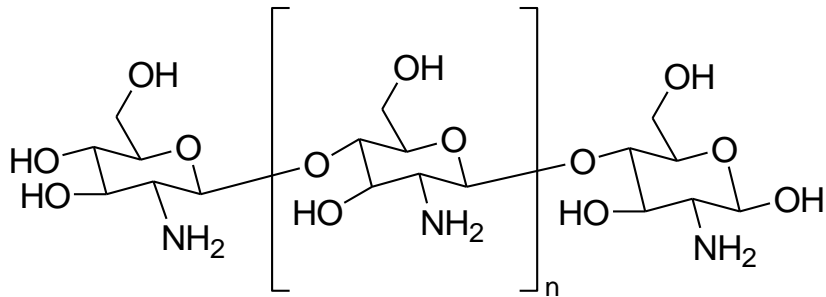
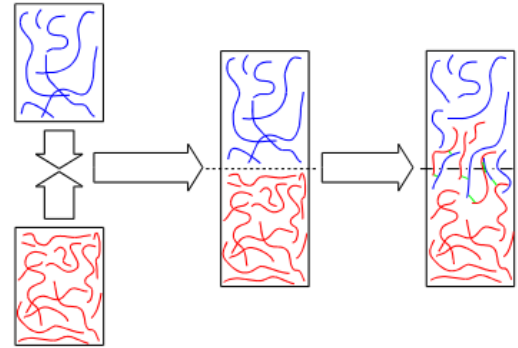
# A mucin szerkezete, kölcsönhatások



Lehetőség erős kölcsönhatásokra: H-híd, diszulfid híd, gélszerű állag

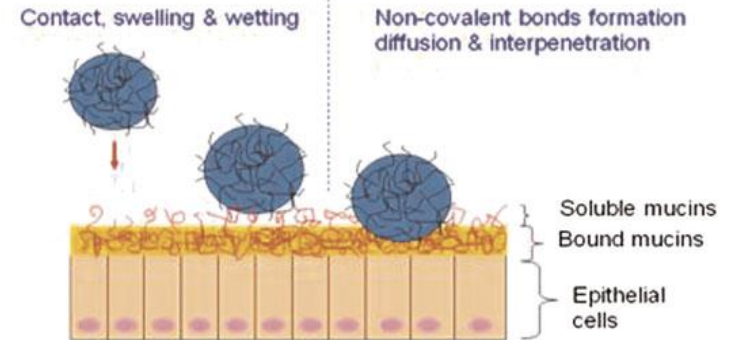
# A mukoadhézió elmélete

1. **Elektrokémiai elmélet**
2. Adszorpciós elmélet
3. Nedvesedési elmélet
4. **Diffúziós elmélet**
5. Törési (szakítási) elmélet
6. Mechanikai elmélet



Érintkezési szakasz

Konszolidáció



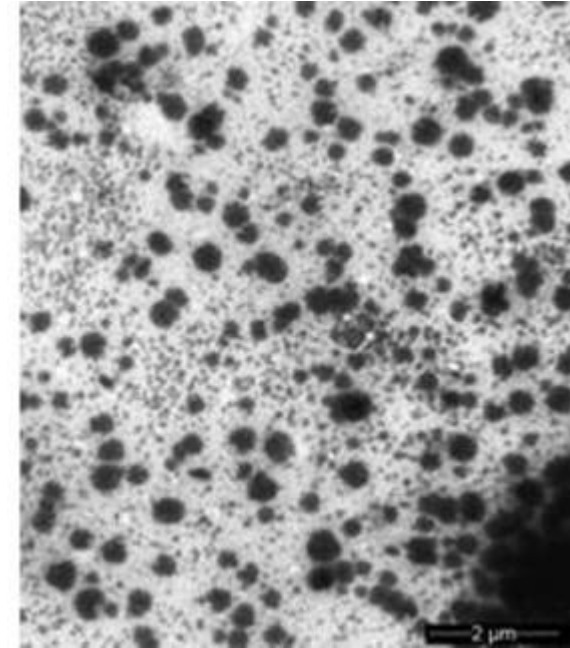
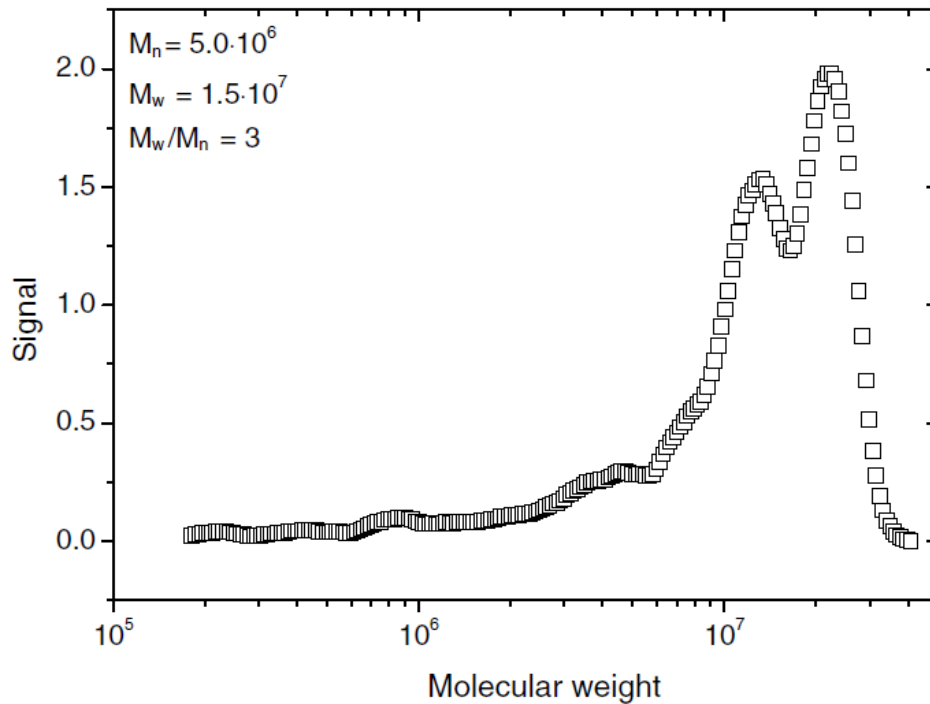


# A mukoadhéziós kölcsönhatást befolyásoló szerkezeti tényezők

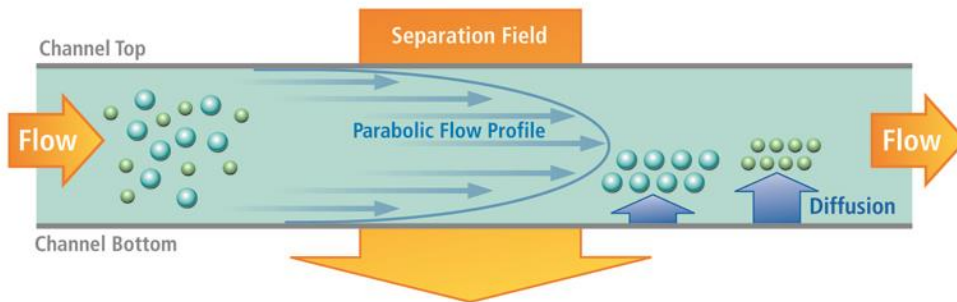
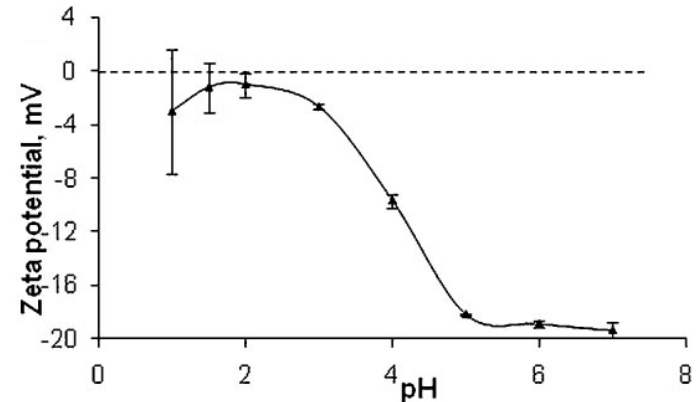
- Víztartalom: általában 90-98%
- Állag: változhat a viszkózus folyadéktól a lágy gélig (**gyomor mucin: pH-függő szol-gél átmenet, védelem az emésztés során!**)
- Töltés: erősen savas funkciós csoportok ( $pK_a = 1,0-2,6$ ), fiziológias körülmények között erős nettó negatív töltés (kivéve gyomor)
- pH:
  - Tüdő, orr: 5,5-6,5
  - Szem: 7,8
  - Száj: 6,2-7,4
  - Gyomor: 1,0-7,0 (étkezéstől függ)
  - Vagina: 4,0-5,0 (terhesség alatt: 4,0 alatt, menopauza után 7,0 körüli)

Gyorsan megújuló réteg: szemben 5-7 perc, légzőrendszerben 10-20 perc, GI traktusban 4-6 óra (átlagosan 200 mikronos réteg)

# Mucin szerkezet a gyomor nyálkahártyában I

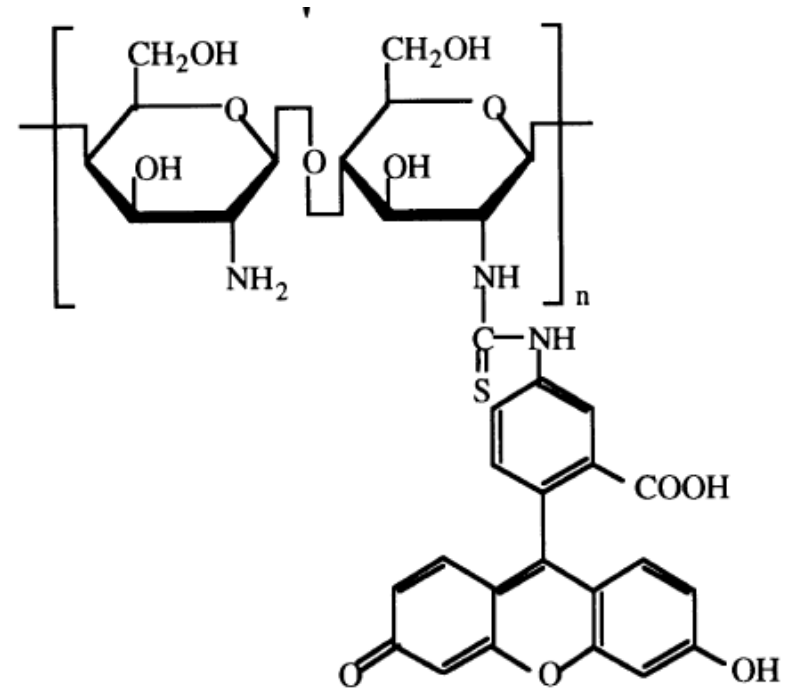
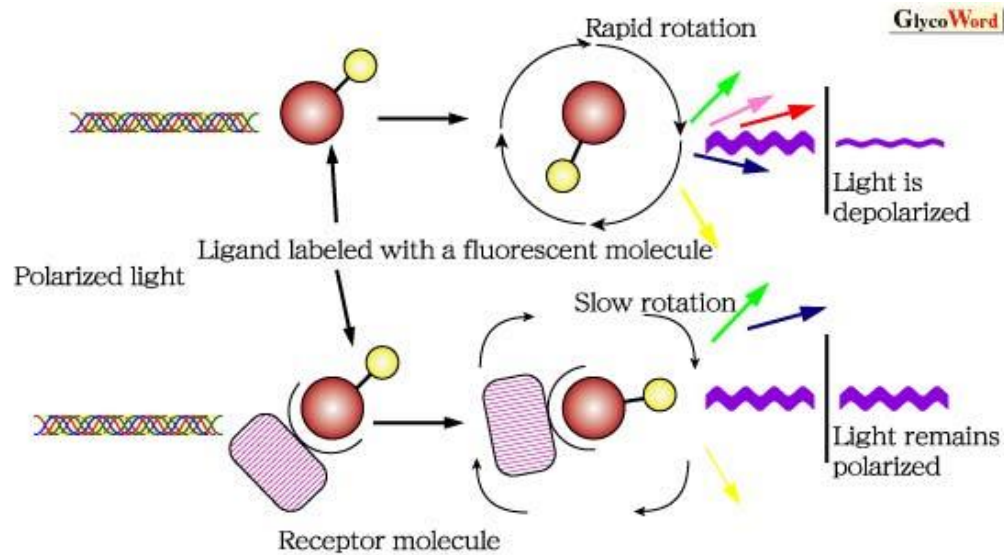


## Transzmissziós elektronmikroszkópia



Asymmetric flow field flow fractionation (nagyon széles mérettartományon alkalmazható, nano-mikrorészecskék is)

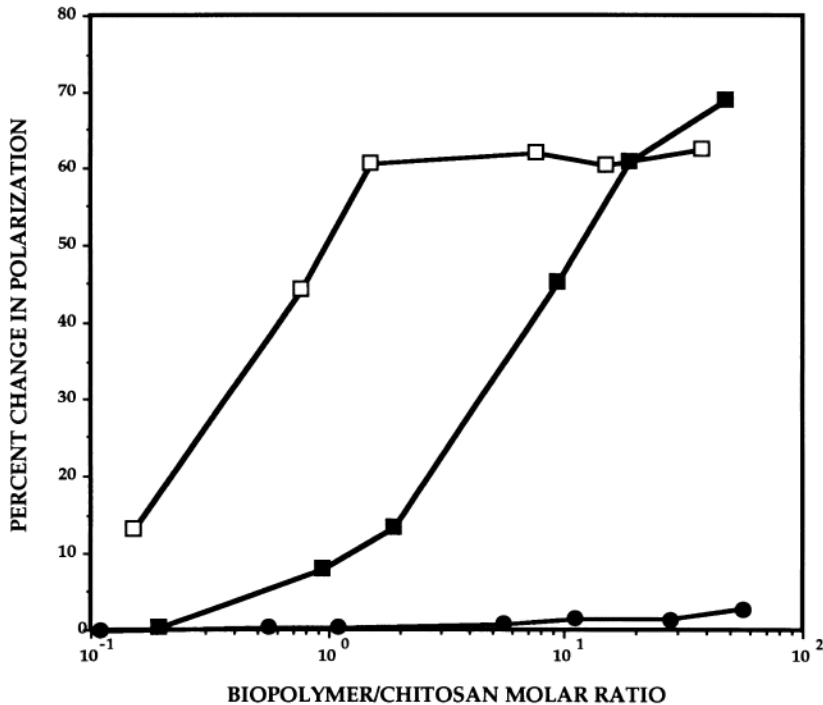
# Mukoadhézió mérése III – Fluoreszcencia depolarizáció



Fluoreszcens kitozán

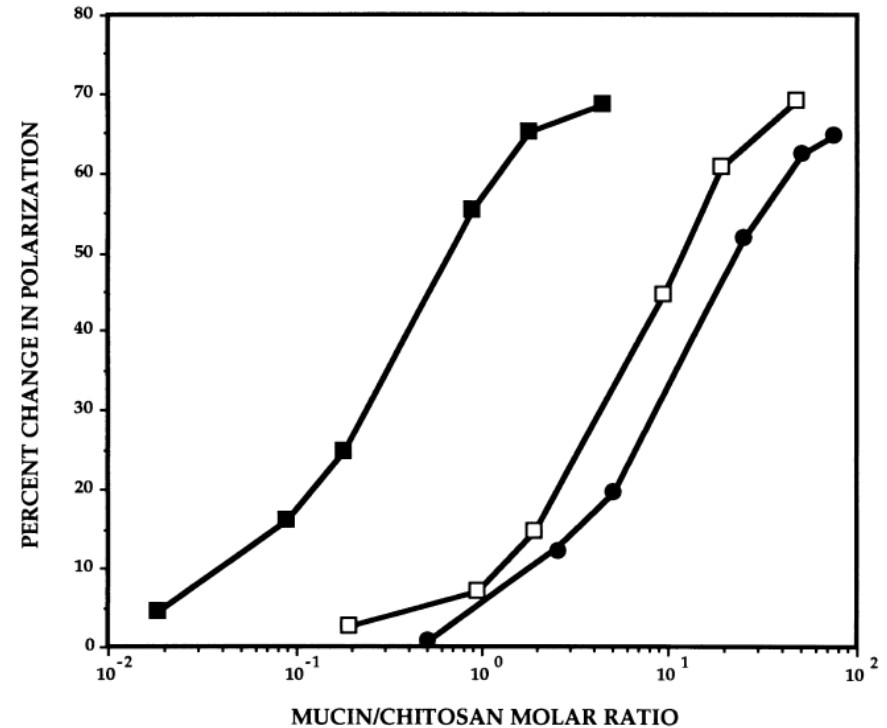
- Kismolekulák esetén gyors depolarizáció
- Makromolekulák esetén maradó polarizáció, steady-state mérhető

# Mukoadhézió mérése III – Fluoreszcencia depolarizáció



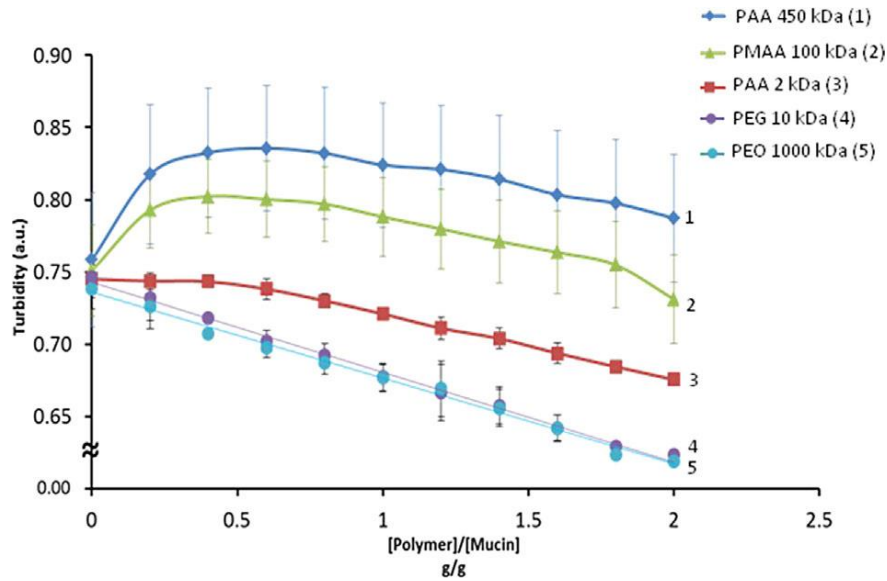
Kitozán: polikation

- Negatív kontroll: albumin
- Pozitív kontroll: dextrán szulfát (polianion)

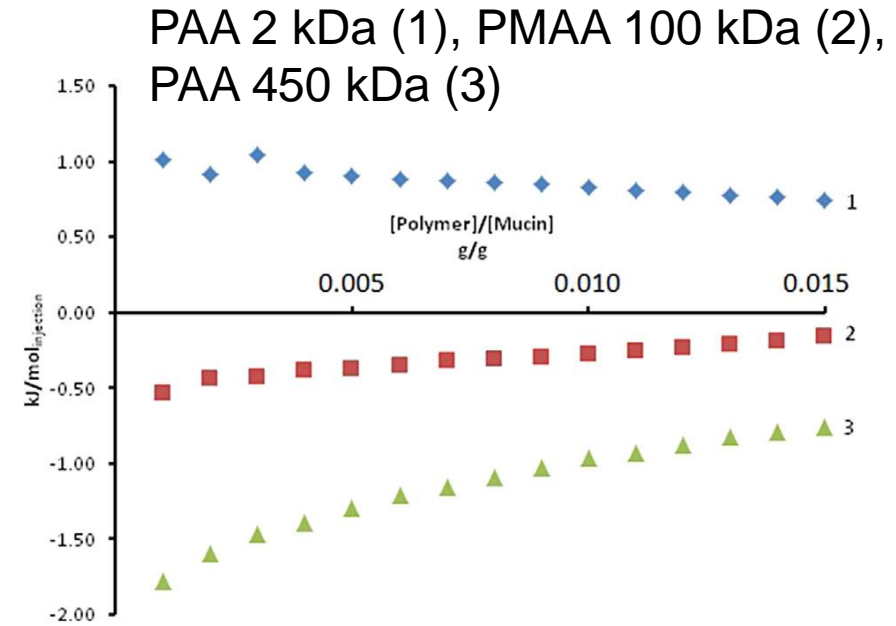


Növekvő molekulatömeggel növelhető a mukoadhézió mértéke (több kölcsönhatási pont)

# Mukoadhéziós kölcsönhatás jellemzése I



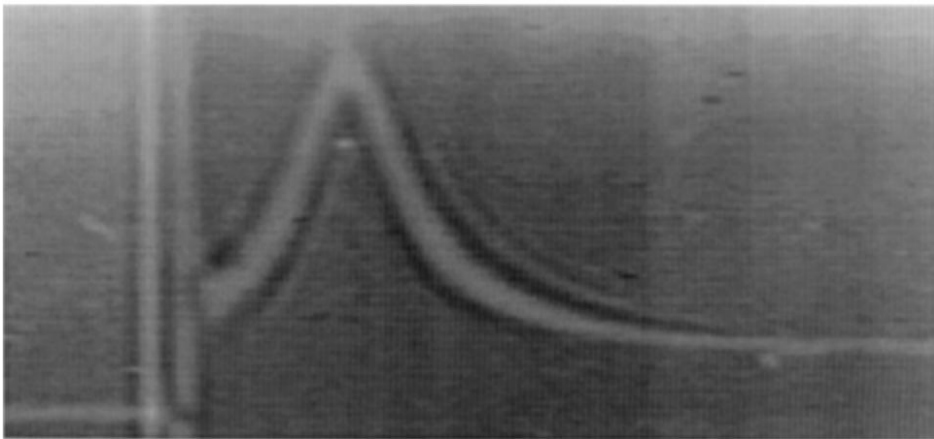
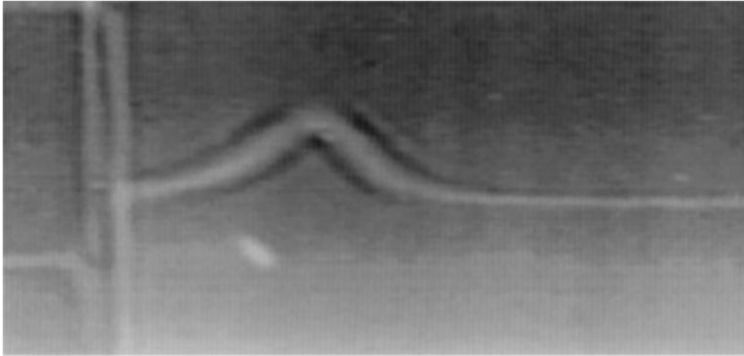
Turbiditás maximum:  
aggregátumok kialakulása,  
majd hígulás



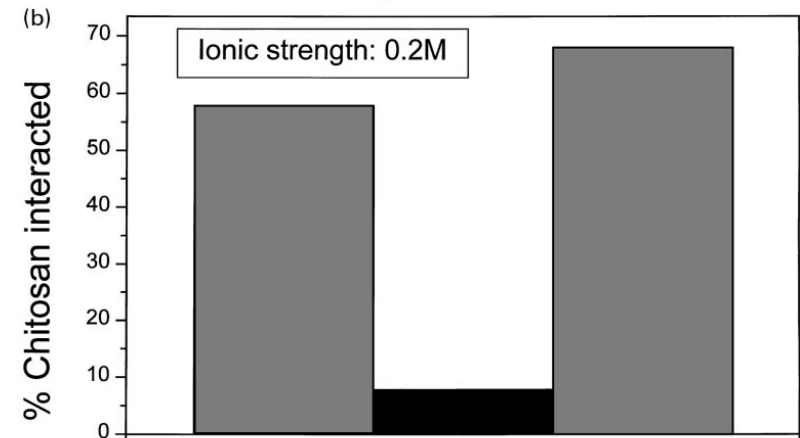
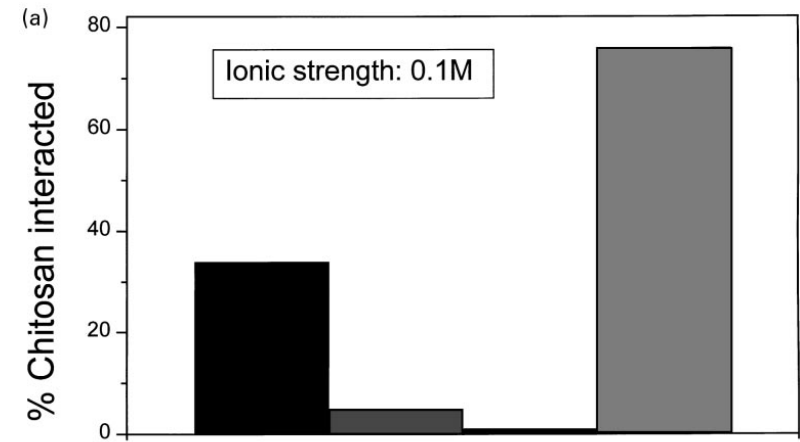
Molekulatömeg- és  
szerkezetfüggő kölcsönhatás-  
erősség

# Mukoadhéziós kölcsönhatás jellemzése II

Mucin + kitozán

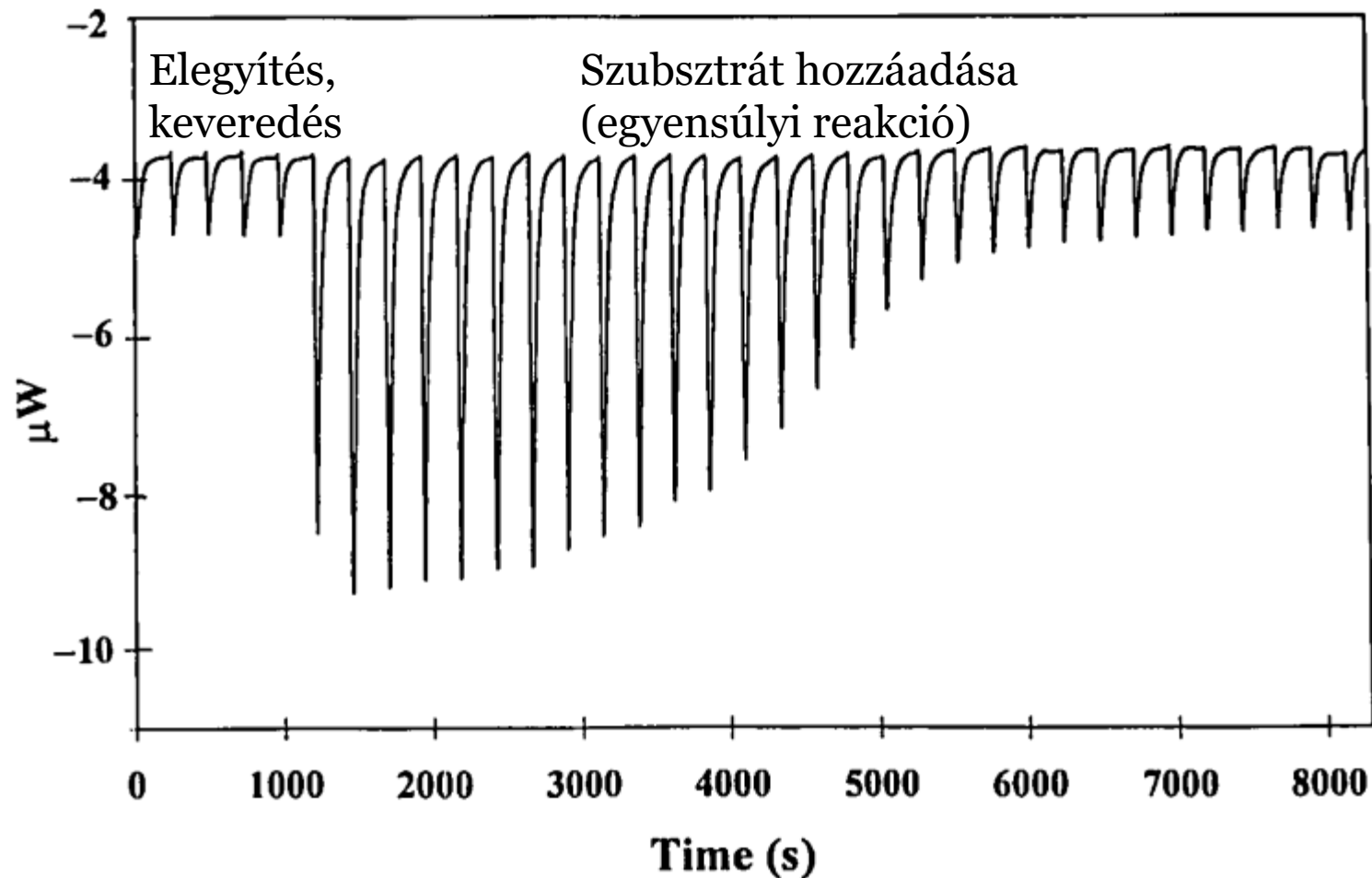


Kitozán kontroll



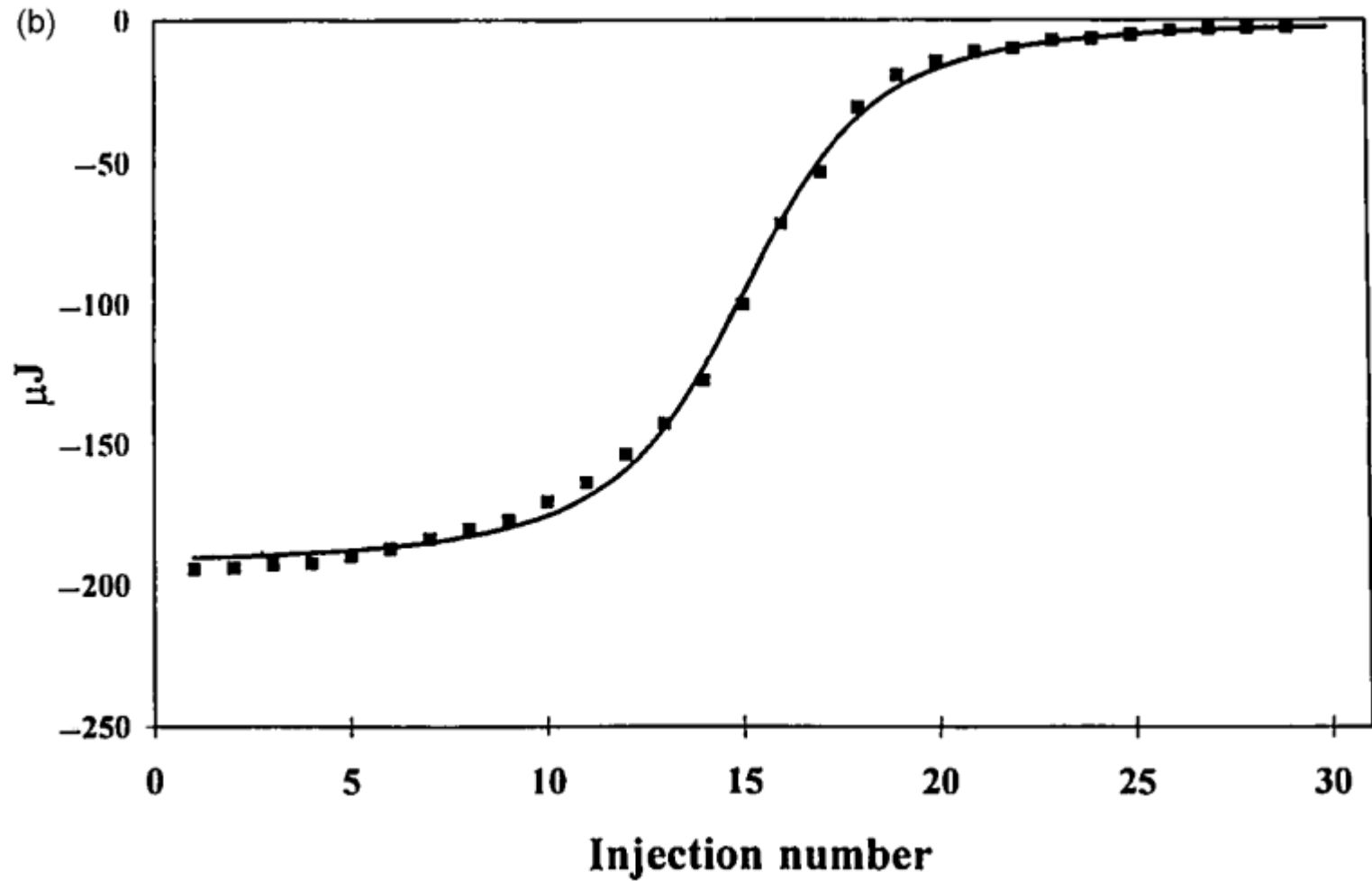
Ultracentrifuga,  $dn/dr$  mérése (törésmutató változása)

# Izoterm titrálósos kalorimetria (ITC)



Nagy mintatérfogat (1 ml), a minták hozzáadagolását követően mérjük az izoterm állapothoz szükséges hőteljesítményt

# Fehérje titrálása szubsztráttal



RNase A enzim titrálása ciklikus foszfáttal (mintamennyiségek!!!)



# Kötődési entalpia ITC mérésből

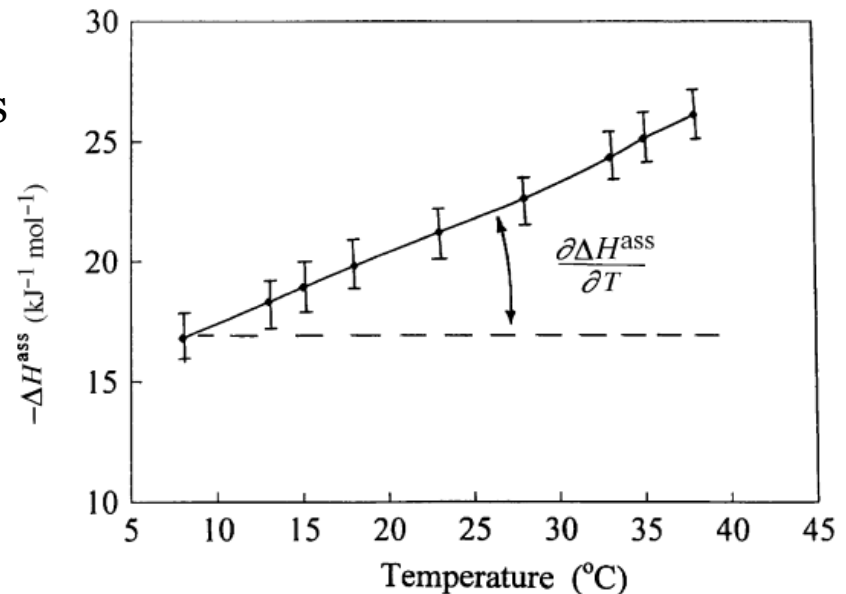
$$q_j = \nu \Delta H \Delta [L_{j,\text{bound}}]$$

A mintatérfogat, megkötött koncentráció és a mért hő ismeretében meghatározható a kötődési entalpia:

$$\Delta C_p = \partial \Delta H / \partial T$$

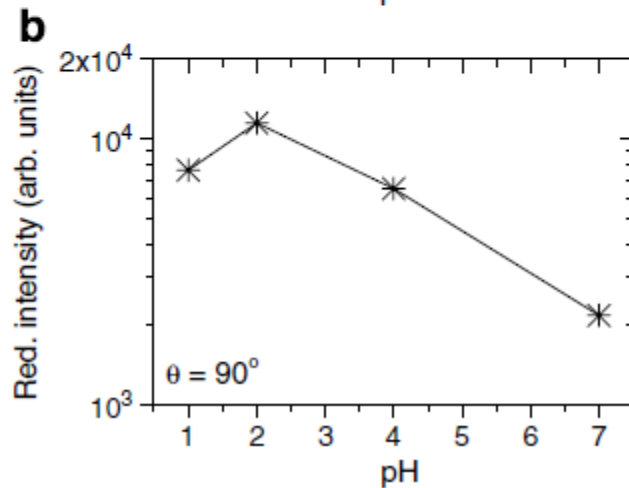
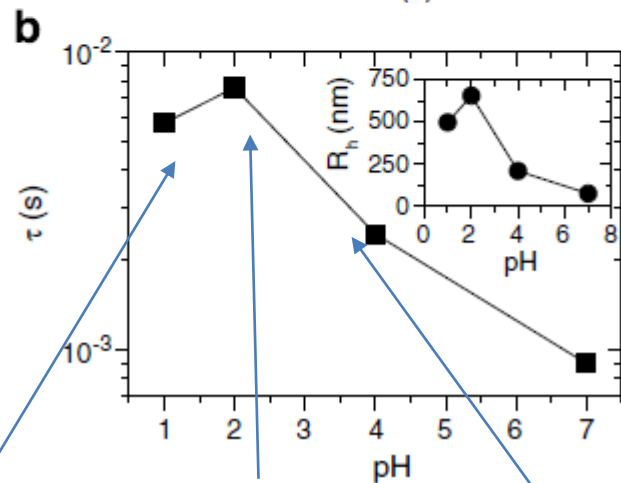
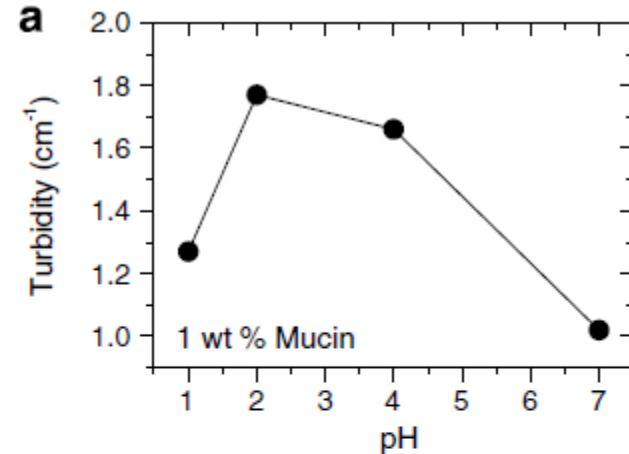
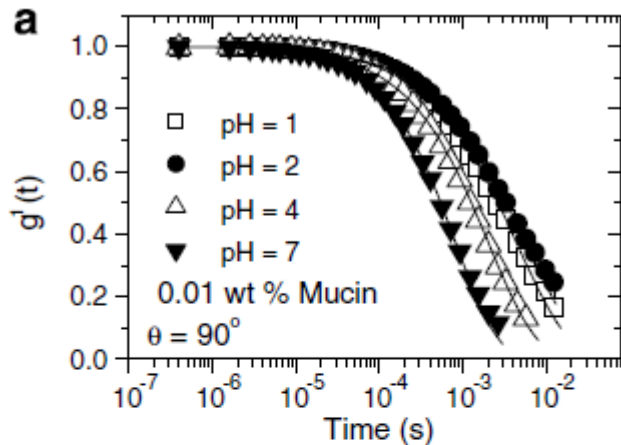
Különböző hőmérsékleteken elvégzett ITC mérésekből a kötődéshez tartozó fajhőváltozás is számolható

DE: a megkötött anyagmennyiséget nem ismerjük, csak a hozzáadottat  
A kettő csak az affinitástól távoli (kis) szubsztrátkoncentrációknál egyezik  
Egyébként az egyensúlyi állandó szükséges (fluoreszcencia depolarizáció mérésekből):



$$\Delta G = -RT \ln K_a = \Delta H - T\Delta S$$

# Mucin szerkezet a gyomor nyálkahártyában II

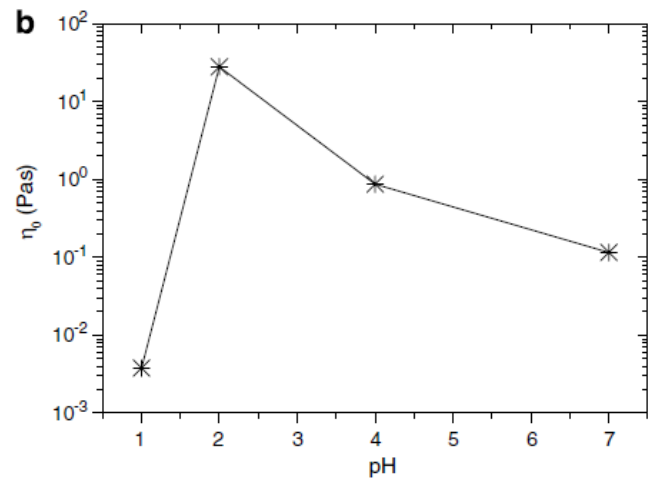
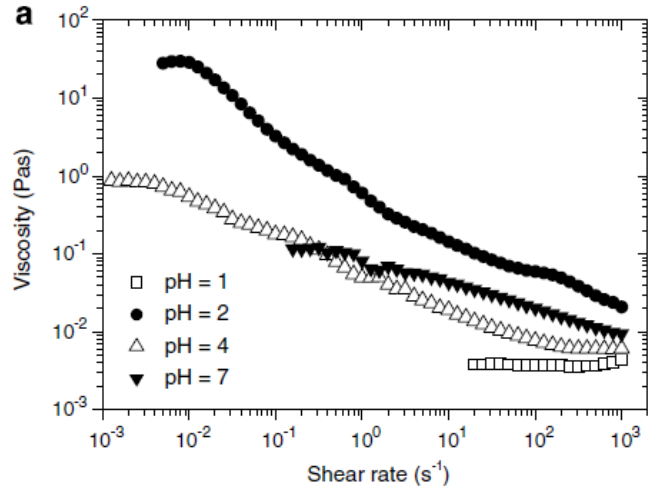


Hidrofób asszociáció

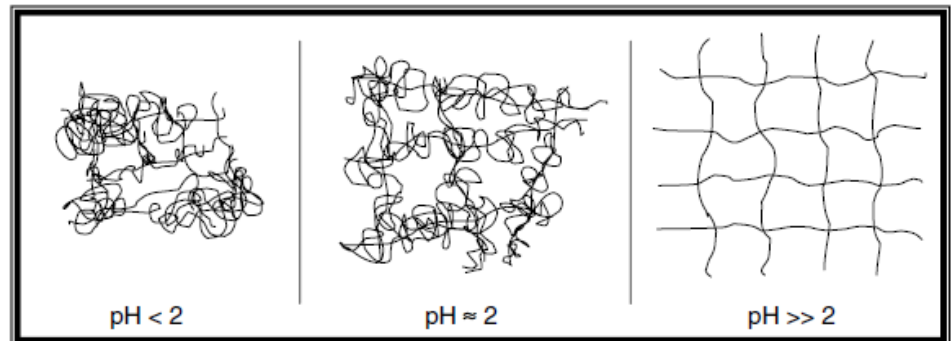
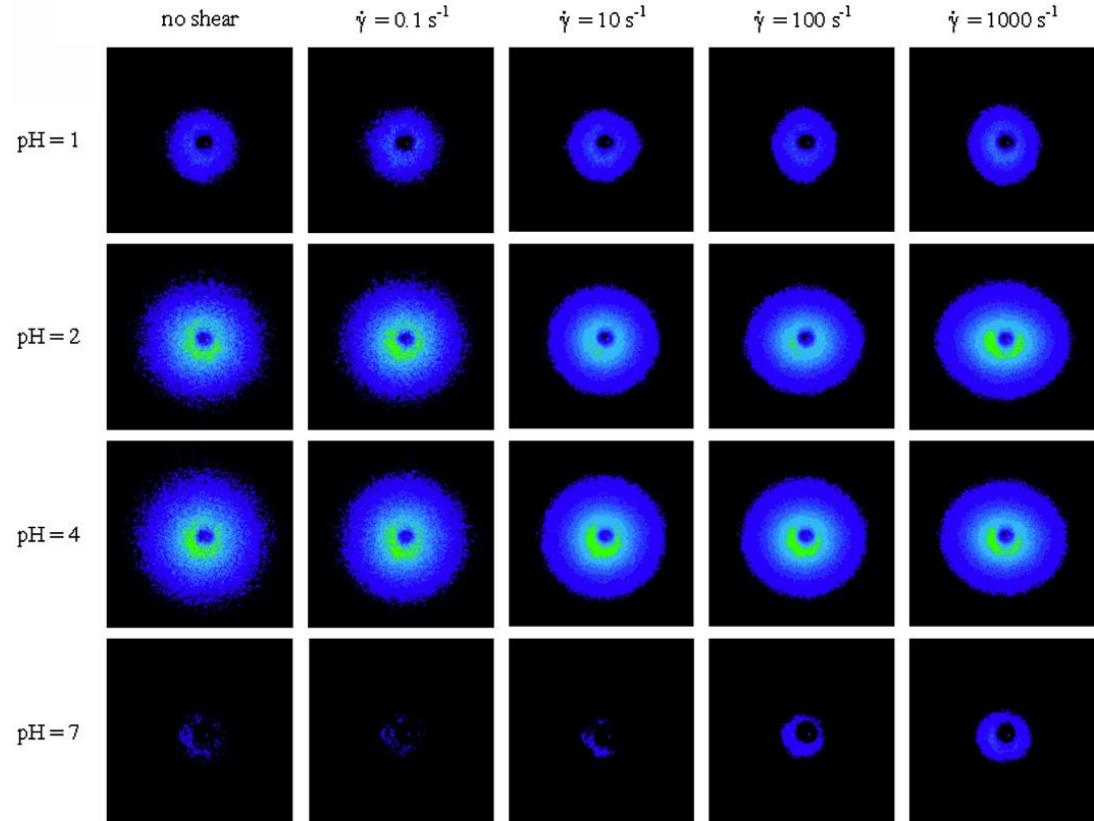
Pozitív töltés,  
diszpergált rendszer

Negatív töltés,  
diszpergált rendszer

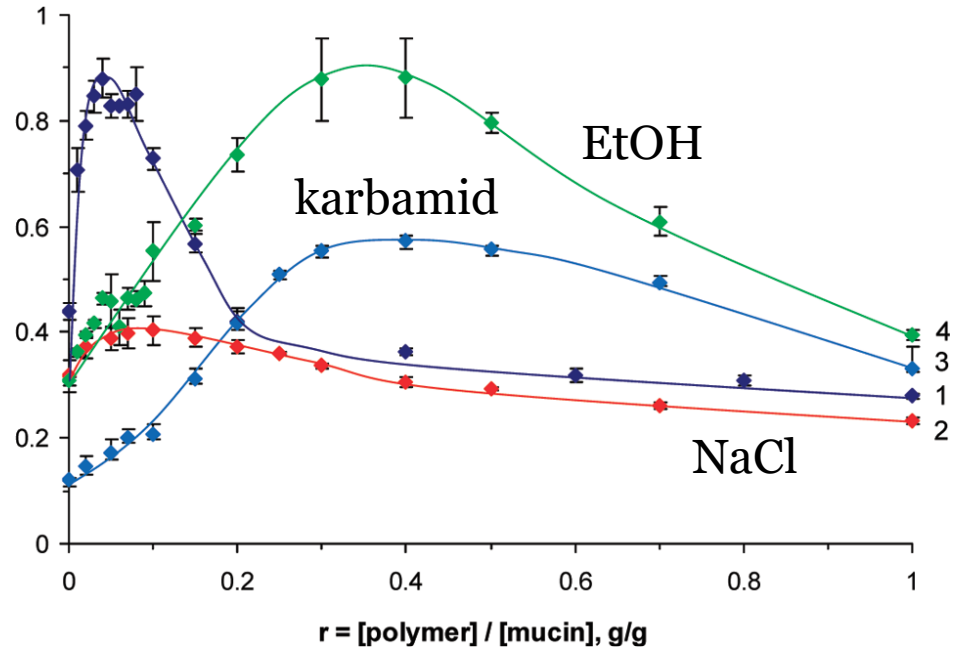
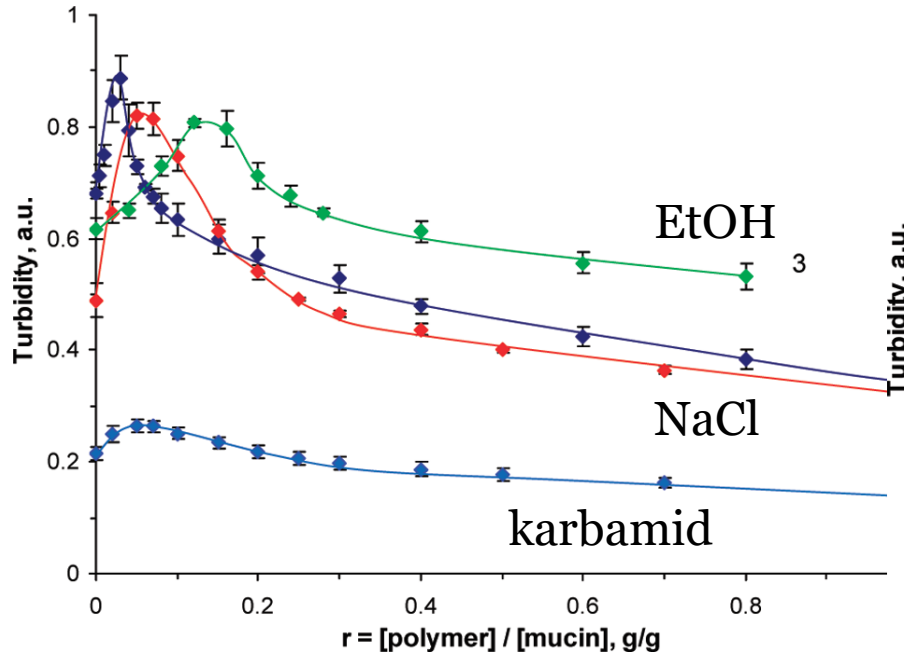
# Mucin szerkezet a gyomor nyálkahártyában III



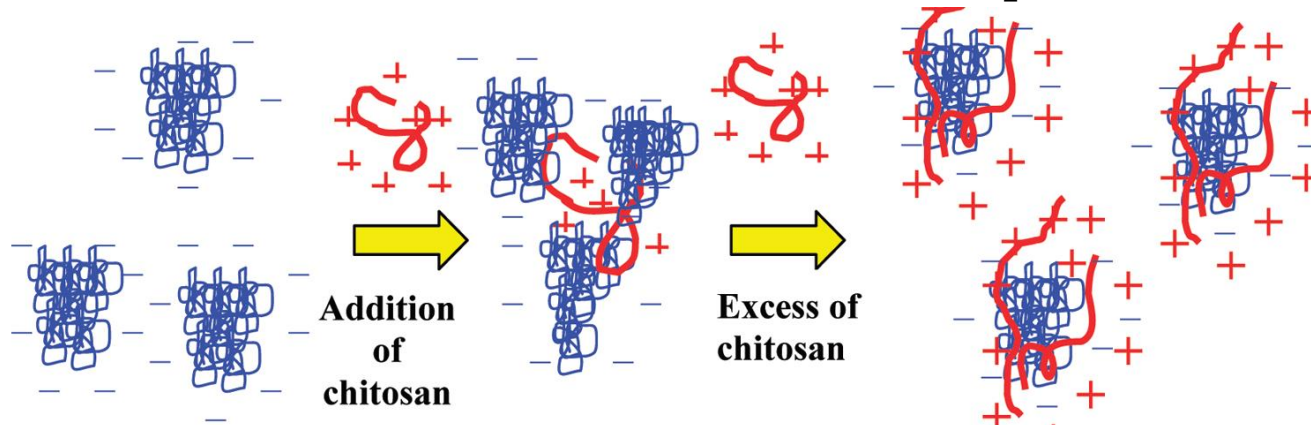
Csak erősen savas pH-n  
newtoni profil



# Mukoadhézió kolloid tartományban III

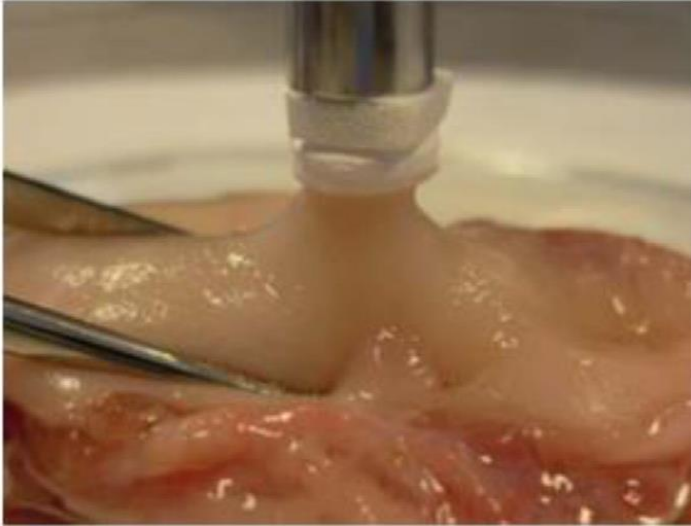


Kitozán (szabad amin csoportok)

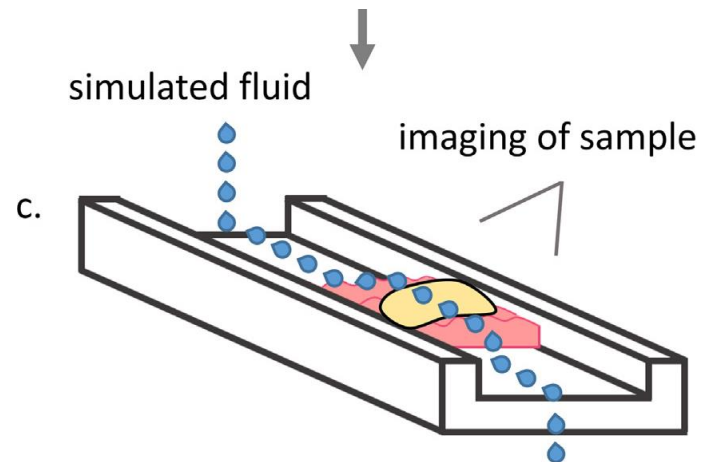
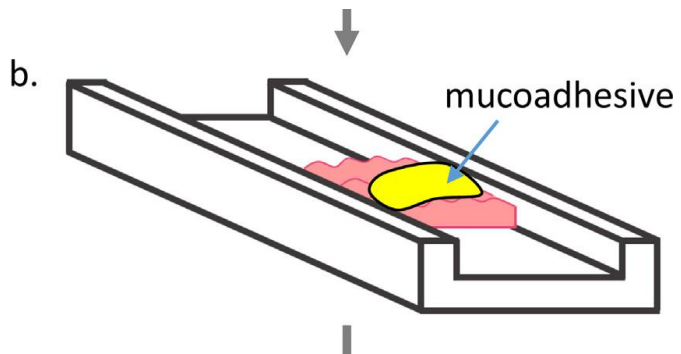
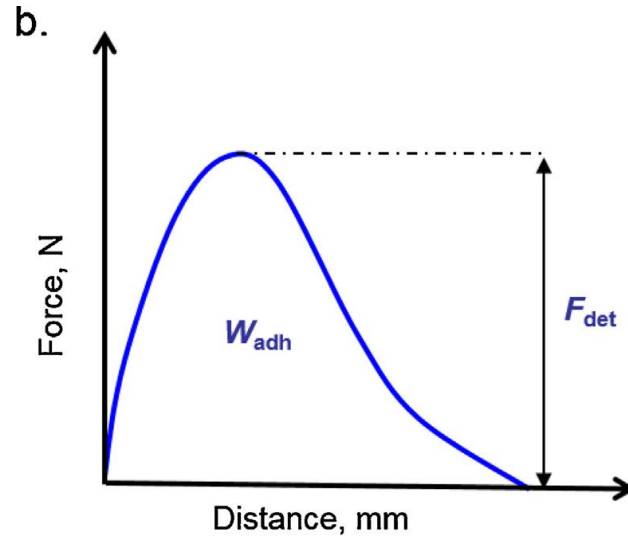


Félig acetilezett kitozán (kevesebb szabad amin csoport)

# Mukoadhézió ex vivo mérése



Szakító vizsgálat



Lemosási tesztek, egyéb analitikai vizsgálatok (IR, AFM...)

# Köszönöm a figyelmet!

