

74635 Molekylær biofysikk EKSAMEN 29. NOVEMBER 1999. LØSNINGSFORSLAG.

En fullgod besvarelse bør ha med flere figurer enn i dette løsningsforslaget. Det er henvist til kompendiet i Molekylær biofysikk (1999-utgaven) samt Øvinger og Lab 1999.

Oppgave 1.

a) (Kap. 6.3.1 og 6.3.2)

Q = segmentlengden og N = antall segmenter ($N - 1$ = antall segmentvektorer).

I tre dimensjoner blir fordelingsfunksjonen:

$$\begin{aligned} P_{eq}(\vec{r}_{e-e}) &= P_{eq}(x) \cdot P_{eq}(y) \cdot P_{eq}(z) \\ &= \left(\frac{3}{2\pi(N-1)Q^2} \right)^{3/2} \exp \left\{ -\frac{3(x^2 + y^2 + z^2)}{2(N-1)Q^2} \right\} \\ &= \left(\frac{3}{2\pi(N-1)Q^2} \right)^{3/2} \exp \left\{ -\frac{3r_{e-e}^2}{2(N-1)Q^2} \right\} \end{aligned} \quad (1)$$

Fordi $P_{eq}(\vec{r}_{e-e})$ er uavhengig av retningen til $\vec{r}_{e-e}$, vil vi finne sannsynlighetsfordelingen for *lengden* av ende-til-ende vektoren ($r_{e-e} = |\vec{r}_{e-e}|$) ved å integrere opp alle endevektorer som ender opp innenfor et kuleskall med radius r_{e-e} og tykkelse dr_{e-e} . Volumet av dette kuleskallet er $4\pi r_{e-e}^2 \cdot dr_{e-e}$:

$$\begin{aligned} P_{eq}(r_{e-e})dr_{e-e} &= P_{eq}(\vec{r}_{e-e}) 4\pi r_{e-e}^2 \cdot dr_{e-e} \\ &= 4\pi r_{e-e}^2 \left(\frac{3}{2\pi(N-1)Q^2} \right)^{3/2} \exp \left\{ -\frac{3r_{e-e}^2}{2(N-1)Q^2} \right\} dr_{e-e} \end{aligned}$$

Mens $P_{eq}(\vec{r}_{e-e})$ har maksimalverdi i origo $\{x, y, z\} = \{0, 0, 0\}$, har $P_{eq}(r_{e-e})$ maksimalverdi for $r > 0$ (som illustrert i Fig. 6.9 og 6.11 i kompendiet).

b) (Kap. 6.4.1)

Det viser seg at det er en fysisk kraft som holder molekylet i sin mest sannsynlige konfigurasjon. Sannsynligheten for en tilstand er koplet til tilstandens entropi, derfor kalles kraften en entropikraft. Dette har sitt opphav i at i den frie energien inngår uttrykket $-T \cdot S$. Nærmere analyse av dette:

Helmholtz frie energi, A , for et kjedemolekyl med en gitt ende-til-ende vektor, $\vec{r}_{e-e}$, er lik

$$A(\vec{r}_{e-e}) = U(\vec{r}_{e-e}, T) - T \cdot S(\vec{r}_{e-e})$$

hvor den indre energien $U(\vec{r}_{e-e}, T) = 0$ for statistisk kjedemolekyl. $S(\vec{r}_{e-e})$ er entropien.

Kraften F som virker pga. endring i posisjonen $\vec{r}_{e-e}$ kan uttrykkes (oppgitt formel)

$$\vec{F}(\vec{r}_{e-e}) = -\frac{d}{dr_{e-e}} A(\vec{r}_{e-e}) \vec{\delta}_{e-e} = T \cdot \frac{d}{dr_{e-e}} S(\vec{r}_{e-e}) \vec{\delta}_{e-e}$$

Ved termodynamisk likevekt gjelder (oppgitt formel)

$$S(\vec{r}_{e-e}) = k_B \ln W(\vec{r}_{e-e})$$

hvor $W(\vec{r}_{e-e})$ er antallet konformasjoner som svarer til en og samme termodynamisk tilstand. W vil være proporsjonal med $P_{eq}(\vec{r}_{e-e})$, og innsetting av $\ln P_{eq}(\vec{r}_{e-e})$ fra likningen over gir

$$\vec{F} = -\frac{3k_B T}{(N-1)Q^2} \vec{r}_{e-e} = -k_s \vec{r}_{e-e}$$

Oppgave 2.

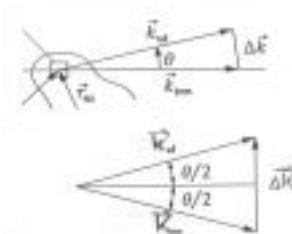
a) (Kap. 14.1.3)

Spredvektoren er definert:

$$\vec{\Delta k} \equiv \vec{k}_{\text{ut}} - \vec{k}_{\text{inn}}$$

der $\vec{k}_{\text{inn}}$ og $\vec{k}_{\text{ut}}$ er bølgetallsvektoren for henholdsvis innfallende og spredt stråling. For elastisk spredning er $|\vec{k}_{\text{inn}}| = |\vec{k}_{\text{ut}}| = k$, og idet θ er spredvinkelen får vi (fra figuren):

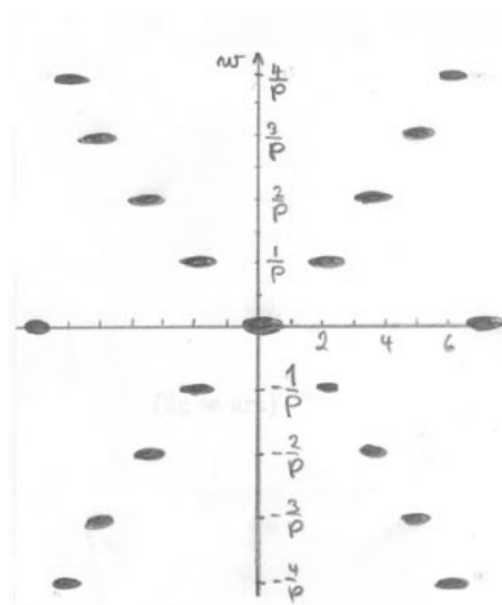
$$|\vec{\Delta k}| = 2 \cdot k \cdot \sin(\theta/2)$$



b) (Kap. 14.2.1, Fig. 14.12)

Diracs deltafunksjon $\delta(w - n/P)$ i uttrykket viser at $A^*(\vec{\Delta k})$ består av plan som er normale på w -aksen i det resiproke rommet med $A^*(\vec{\Delta k}) = 0$ utenfor disse planene. Planene ligger i avstand $w = 1/P$, dvs. at avstanden mellom planene blir tettere jo større heliksstigningen P er. Innenfor hvert plan n er intensiteten $I_n \propto |J_n(2\pi \cdot Rr_0)|^2 \cdot |\exp\{in(\psi + \pi/2)\}|^2 = |J_n(2\pi \cdot Rr_0)|^2$.

I de fleste tilfeller vil vi kunne betrakte Ewaldkula som et plan ($1/\lambda \gg 1/P$). Svertingen på filmen i hvert plan vil da være parallelle sjiktlinjer der verdien er lik $|J_n(\chi)|^2$, og resultatet er vist i figuren til høyre. Man merker seg spesielt det såkalte "helikskryss" som framkommer pga. lokaliseringen av det første maksimum for Besselfunksjonene etter som n øker.



Oppgave 3.

a) (Kap. 14.4.1, Øving 12.) Alle molekylvekter i Dalton:

$$\text{Antallsmiddel: } \langle M \rangle_n \equiv \frac{\sum_i n_i \cdot M_i}{\sum_i n_i} = \frac{0,20 \cdot 10000 + 0,50 \cdot 20000 + 0,30 \cdot 100000}{0,20 + 0,50 + 0,30} = \underline{42000}.$$

$$\text{Vektsmiddel: } \langle M \rangle_w \equiv \frac{\sum_i M_i \cdot n_i \cdot M_i}{\sum_i M_i n_i} = \frac{10000 \cdot 0,20 \cdot 10000 + 20000 \cdot 0,50 \cdot 20000 + 100000 \cdot 0,30 \cdot 100000}{10000 \cdot 0,20 + 20000 \cdot 0,50 + 100000 \cdot 0,30} = \underline{76700}.$$

$$z\text{-middel: } \langle M \rangle_z \equiv \frac{\sum_i M_i^2 \cdot n_i \cdot M_i}{\sum_i M_i^2 n_i} = \frac{10000^2 \cdot 0,20 \cdot 10000 + 20000^2 \cdot 0,50 \cdot 20000 + 100000^2 \cdot 0,30 \cdot 100000}{10000^2 \cdot 0,20 + 20000^2 \cdot 0,50 + 100000^2 \cdot 0,30} = \underline{94500}.$$

Med relasjonen $n_i = c_i \cdot N_A / M_i$ kan definisjonene alternativt skrives: $\langle M \rangle_w = \frac{\sum_i c_i \cdot M_i}{\sum_i c_i}$ og $\langle M \rangle_z = \frac{\sum_i c_i \cdot M_i \cdot M_i}{\sum_i c_i \cdot M_i}$, men disse uttrykk er mindre praktiske når relativt antall er gitt.

b) (Kap. 14.4.1)

Vi griper tak i oppgitt likning for statisk lysspredning. Siden vi bare skal vise hvilken type molekylvektsgjennomsnitt vi oppnår, lar vi R_G og B_2 begge være lik null. Vi får henholdsvis for totalsignal og for signal fra hver molekyltype i :

$$\frac{\kappa c_{\text{tot}}}{R_{\theta, \text{tot}}} = \frac{1}{\langle M \rangle} \quad \text{og} \quad \frac{\kappa c_i}{R_{\theta, i}} = \frac{1}{M_i}$$

Med oppgitt

$$R_\theta \equiv \frac{r^2}{1 + \cos^2 \theta} \cdot \frac{I(\theta)}{I_0} = \frac{I(\theta)}{k} \quad \text{og dermed} \quad R_{\theta,i} \equiv \frac{r^2}{1 + \cos^2 \theta} \cdot \frac{I_i(\theta)}{I_0} = \frac{I_i(\theta)}{k}$$

der k er en konstant for en og samme θ , finner vi at den totale intensiteten er

$$I(\theta) = \sum_i I_i(\theta) = k \cdot \sum_i R_{\theta,i} = k \cdot \kappa \sum_i (M_i c_i)$$

Men totalintensiteten er også gitt av

$$I(\theta) = k \cdot R_\theta = k \cdot \kappa \langle M \rangle c_{\text{tot}}$$

Sammenholdning av disse to uttrykkene for $I(\theta)$ gir svaret:

$$\langle M \rangle = \frac{\sum_i c_i \cdot M_i}{c_{\text{tot}}} = \frac{\sum_i c_i \cdot M_i}{\sum_i c_i} \equiv \langle M \rangle_w$$

Oppgave 4.

a) (Kap. 1.3.1 Tab. 1.1)

Vi tar eksempel i en σ -orbital. Denne kan være en sammensmeltning av to $1s$ -orbitaler fra to ulike atomer, enten ved sum av de to bølgefunksjoner: $\Psi_g(1s) = \Psi_{1s}(1) + \Psi_{1s}(2) \equiv \sigma_g(ns)$ eller differanse: $\Psi_u(1s) = \Psi_{1s}(1) - \Psi_{1s}(2) \equiv \sigma_u^*(ns)$. Her er "g"=gerade (like funksjon, even) og "u"= ungerade (odde). For gerade er det mye større sannsynlighet å finne elektronet mellom atomkjernene enn ungerade (Fig 1.5, 1.6 i kompendiet), slik at gerade danner en god binding, ungerade ikke. Dette viser seg også ved at energinivået er høyere i ungerade enn i gerade (Fig. 1.4). Vi kaller derfor gerade og ungerade for henholdsvis en bindingsorbital og en antibindingsorbital (merket med *).

Hver av orbitalene har plass til to elektroner, enten det er gerade eller ungerade. H_2 har to elektroner i $\sigma_g(1s)$ -orbitalen mens He_2 har to elektroner i $\sigma_g(1s)$ og to i $\sigma_u^*(1s)$. Den vesentlige høyere energien til antibindingsorbitalen $\sigma_u^*(1s)$ gjør at det sistnevnte molekyl er ustabilt.

b) (Kap. 1.5 + 11.4)

Synlig lys har bølgelengder 400-700 nm og fotonenergier 2-3 eV. Biomolekyler som har kvanteenergier i dette området er molekyler som inneholder lange lineære eller sykliske konjugerte bindinger. Eksempler på dette er hem-gruppen i hemoglobin (absorberer blått lys), klorofyll og α -karoten.

Elektronorbitaler i slike konjugerte bindinger er som en kvantemekanisk "partikkel i boks", dvs. elektroner kan befinne seg i de konjugerte orbitalene (π -orbitaler) innenfor det avgrensede området og ikke utenfor. Energinivåer for elektroner i konjugerte bindinger er oppgitt (utledet fra energinivåer til partikkel i boks):

$$E_n \simeq \frac{\pi^2 \hbar^2}{2m_e (bN)^2} n^2$$

hvor b er midlere bindingslengde pr. binding, N =antall bindinger+1 og n er kvantetallet som kan eksiteres ved absorpsjon av synlig lys. Store molekyllengder (stor bN) gir mindre kvantesprang, dvs. lengre bølgelengde. Laveste mulige energinivå n er bestemt av antall elektroner i π -orbitalen.

c) (Kap. 4.2.3)

Anta vi har en blanding av store molekyler A og småmolekyler B, begge kuleformede. B-molekylene vil være ekskludert fra et volum rundt A som er lik ei kule med radius lik summen av radiene til molekyl A og B. Men hvis to A-molekyler slår seg sammen blir eksklusjonsvolumet mindre, som igjen betyr at molekylene B får større tilgjengelig volum, og dermed flere tilgjengelige tilstander; entropien øker. Reaksjonen $A + A = 2A$ er derfor en entropidrevet reaksjon, og (eksklusjons)kraften som driver A-molekylene sammen er en entropikraft. Noe liknende kompendiets Fig 4.6 bør være med.

Helt tilsvarende eksklusjonskraft fører til at de store molekylene har en tendens til å samle seg langs vegger og spesielt i kroker (hjørner) i et kar, mens de søker seg bort fra kanter.

d) (Kap. 8.3)

Membranen består av et lipiddobbeltlag med endel integrale proteiner og på den intracellulære sida et nettverk som består i hovedsak av det langstrakte molekylet spektrin. Spektrin er en dimer med to nesten like kjeder (monomere). Spektrinmolekylene er bundet sammen i et nettverk som er så tynt i retning normalt på celleveggen at det kan betraktes som todimensjonalt. Nettverket er festet til spesielle intramembranpartikler i lipiddobbeltlaget gjennom proteinet ankyrin. (Fig. 8.10 i kompendiet)

Det oppstår en spesiell spenning mellom lipiddobbeltlaget og nettverket som gjør at erythrocyttens spesielle form (disk-formet) er den stabile under normale forhold. Uten spektrin vil cellene bli kulerunde. (Man kan her gjerne gå litt i detaljer på energibalansen, men dette kreves ikke).

e) (Lab 1)

TEM = Transmisjons EM. Virkemåten er analog til vanlig lysfelt lysmikroskopi. (Amplitude)kontrasten dannes ved at innfallende elektroner spres (avbøyes) i nærheten av tunge atom og dermed ikke fanges opp av objektivet. Oppløsningen er meget bra: ned til 0,2 nm.

STEM = Scanning Transmisjons EM. Her avbilder kondensorsystemet elektronkilden i et så lite punkt som mulig på objektet. Strålen scanner over objektet som i et TV-bilde. Transmittert elektronstråle detekteres, korreleres til scanneposisjon og gir et bilde av objektet på en TV-skjerm. Fordelene med STEM er at man kan få skarpe bilder av mye tykkere preparat enn TEM og dessuten at kontrasten kan manipuleres (økes) elektronisk. Oppløsningen er begrenset av strålepunktets størrelse, 1,5 - 2,0 nm, og dermed dårligere enn for TEM. Stor dybdeskarpheit.

SEM = Scanning EM. Scanning av objektet helt likt med STEM. Men billedannelsen foregår ved å samle opp sekundærelektroner fra prøven. Dette gir et bilde av prøveoverflatens sammensetning og struktur, dvs. et topografisk bilde av prøveoverflata og ikke et projeksjonsbilde av prøvetettheten som i TEM og STEM. Oppløsningen omlag som for STEM: 2-3 nm.

f) (Lab 9)

Homogeniteten i magnetfeltet fra supralederen er ikke bra nok for høgoppløsnings NMR. Inhomogeniteter ΔB_0 i det statiske magnetfeltet fører til at linjebredden til absorpsjonstoppene blir dårligere. Dette fordi halvverdibredde $= (\Delta\omega)_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{T_2^*}$ øker når den effektive transversale relaksasjonstiden T_2^* avtar, og T_2^* igjen avtar når inhomogeniteten ΔB_0 øker:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \cdot \Delta B_0 / 2$$

Homogeniteten kan forbedres ved bruk av et antall små elektriske "shimme"-spoler plassert rundt omkring proben. Ved å justere strømmen i disse spolene, kan korrigerende magnetfelter settes opp.

Det finnes flere sett av shimmespoler i ulike retninger. Strømmen i disse kan justeres individuelt fra operatørbordet. Strømmene justeres inntil breddene på toppene blir smalest mulig. (Det ble i NMR-labben demonstrert en spesiell teknikk for å få dette til raskt, men denne teknikken kreves ikke beskrevet her.)

A.Mikkelsen 1.12.99

Eksamensresultat:

1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	Totalt	Middel (uten 6,0)					
1	5	2	2	2	4	0	0	0	0	1	17	2,34					
Snitt for de ulike oppgavene:						1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	4c	4d	4e	4f
						2.1	3.3	1.4	1.8	2.9	3.9	2.8	2.0	2.5	2.4	2.1	1.5