

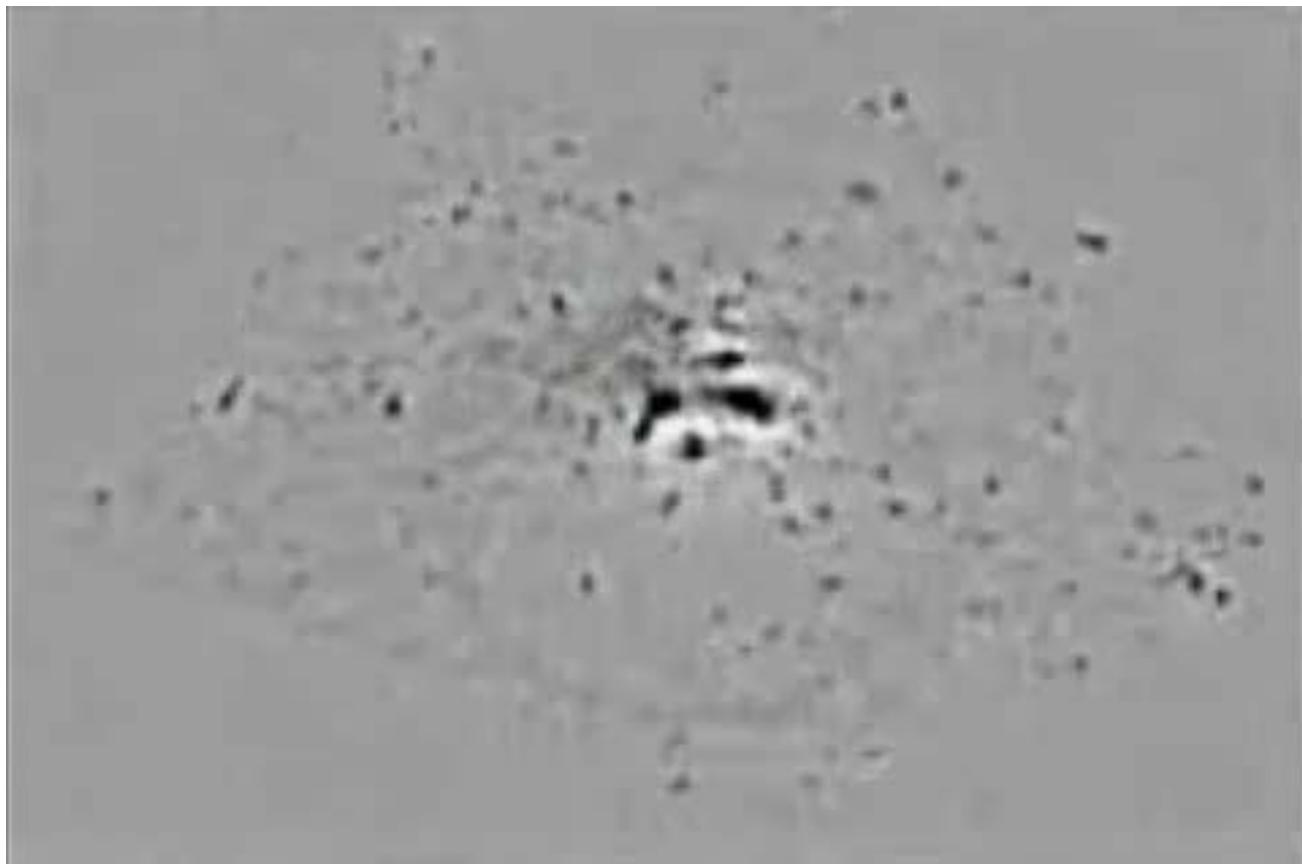
Lebenswissenschaftliches Kolleg der Studienstiftung
Biophysik und biophysikalische Chemie

September 2013
Rastatt

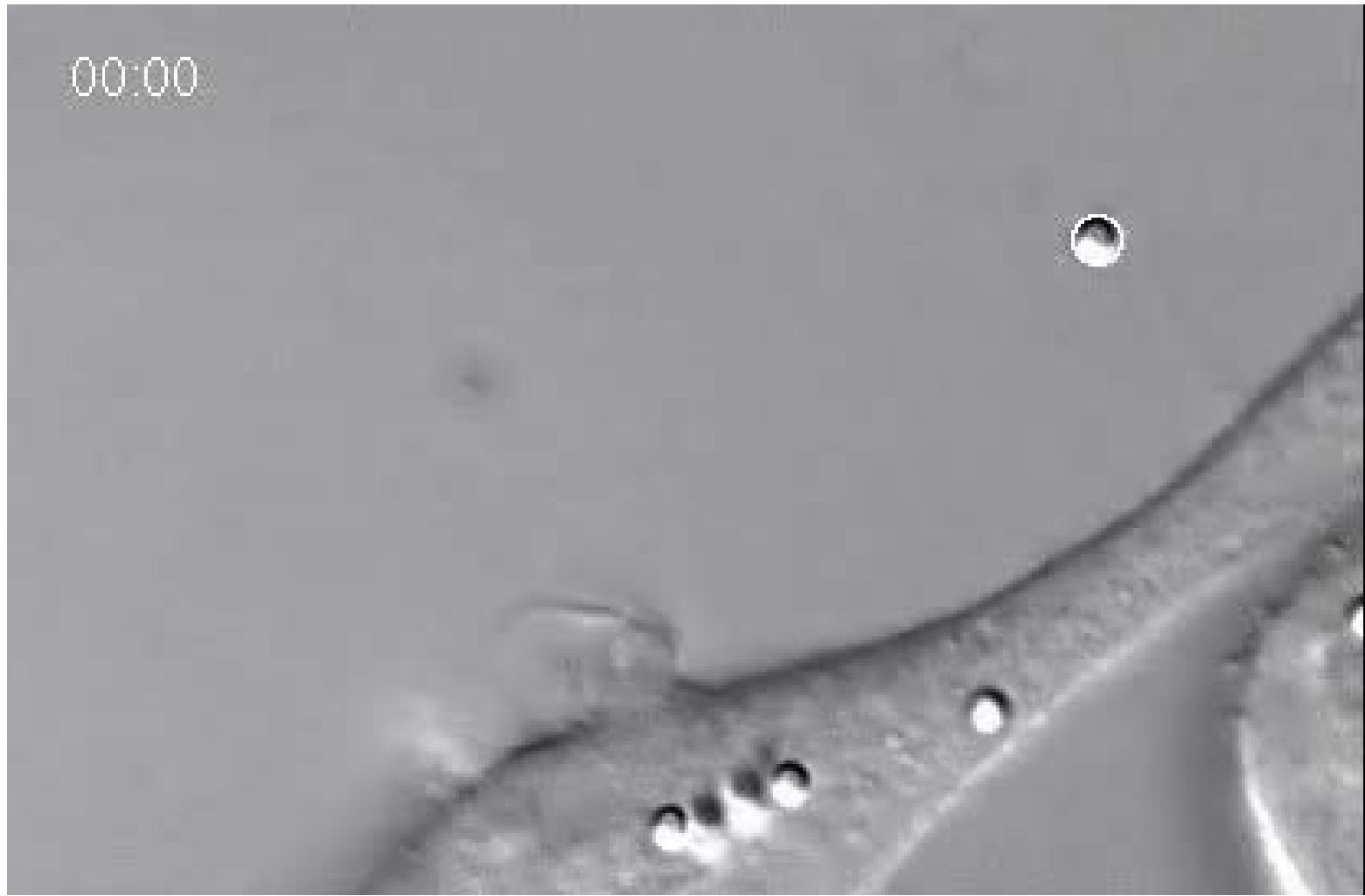
Transport durch molekulare Motoren

17. September 2013

Prof. Holger Kress
Universität Bayreuth
Experimentalphysik I



Film 1: Bewegung von Vesikeln in einer Zelle. [Utrecht University]



Film 2: Ein Mikropartikel wird von einer Makrophage durch Phagozytose internalisiert und danach durch molekulare Motoren entlang des Zellskeletts transportiert. Differentialinterferenzmikroskopische Aufnahme (DIC).
[Holger Kress, Dissertation, 2006]



Film 3: Mikropartikel (größere Partikel mit $1.0 \mu\text{m}$ und kleinere Partikel mit $0.35 \mu\text{m}$ Durchmesser) die Brownsche Bewegung in wässriger Lösung vollziehen.
Film in Echtzeit [Holger Kress, 2003]

Zurückgelegter Weg:
(Root mean squared displacement)

$$x_{rms} = \sqrt{2Dt}$$

Diffusionskoeffizient:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

große Kugeln: $r = 500 \text{ nm} \rightarrow D = 0.5 \mu\text{m}^2/\text{s}$

kleine Kugeln: $r = 180 \text{ nm} \rightarrow D = 1.4 \mu\text{m}^2/\text{s}$

Times for one-dimensional diffusion in aqueous solution

Object	Distance diffused			
	1 μm	100 μm	10 mm	1 m
K ⁺	0.25 ms	2.5 s	2.5×10^4 s (7 hrs)	2.5×10^8 s (8 years)
Protein	5 ms	50 s (~1 min.)	5×10^5 s (6 days)	5×10^9 s (150 years)
Organelle	1 s	10^4 s (~3 hr.)	10^8 s (3 years)	10^{12} s (30 millennia)

Note: K⁺: Radius ~0.1 nm, T = 25°C, D ≈ 2000 $\mu\text{m}^2/\text{s}$.

Protein: Radius = 3 nm, viscosity = 0.6915 mPa·s⁻¹, T = 37°C, D ≈ 100 $\mu\text{m}^2/\text{s}$.

Organelle: Radius = 500 nm, viscosity = 0.8904 mPa·s⁻¹, T = 25°C, D ≈ 0.5 $\mu\text{m}^2/\text{s}$.

Abb. 1: Per Diffusion zurückgelegte Strecken in Abhängigkeit der Objektgröße und der verstrichenen Zeit. [Tabelle aus Howard, *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*, 2001]

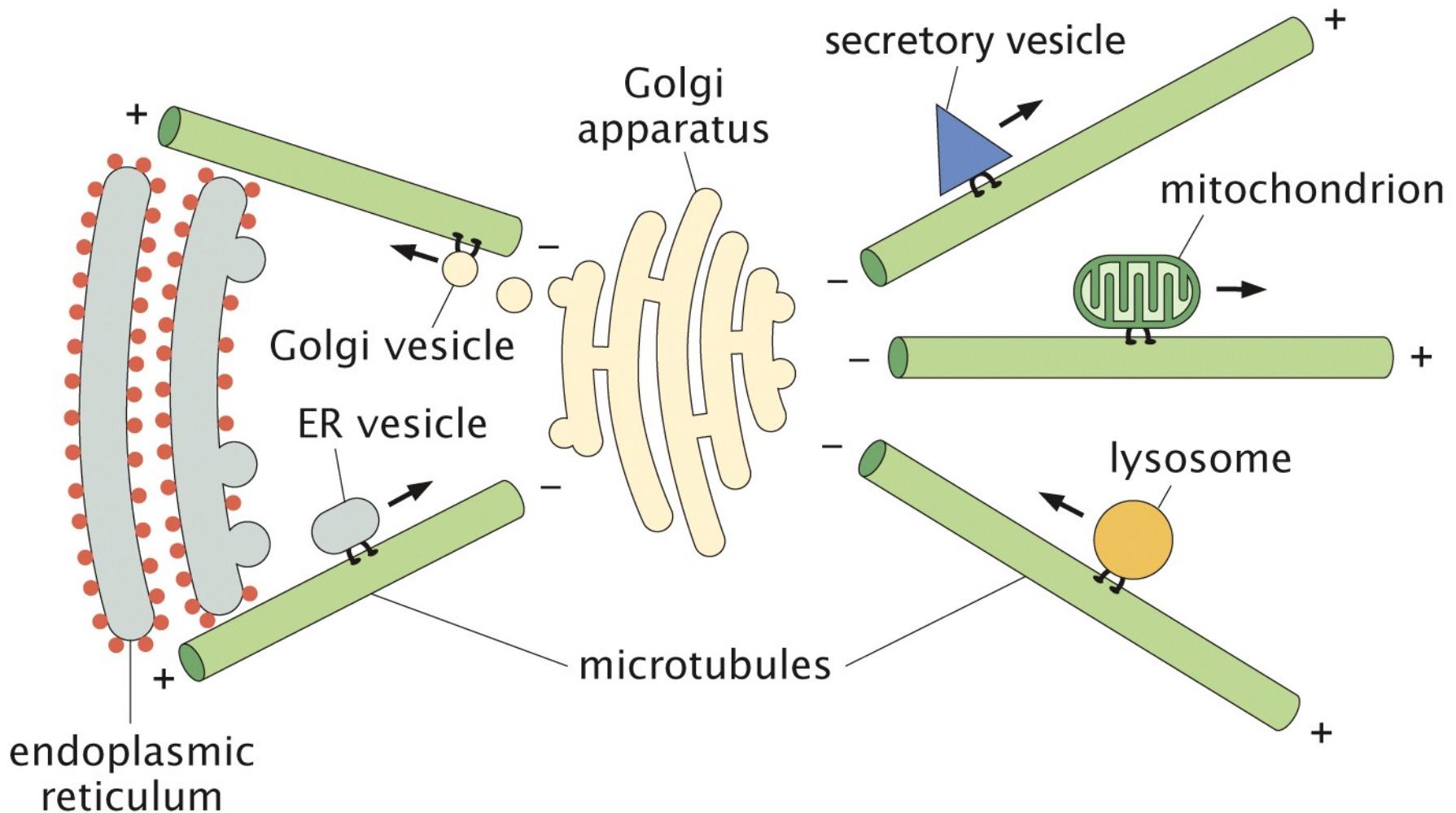


Figure 16.3 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 2: Gerichteter Transport verschiedener membranumschlossener Organellen (Membranorganellen) entlang von Mikrotubuli. [Phillips et al., *Physical Biology of the Cell*, 2012]

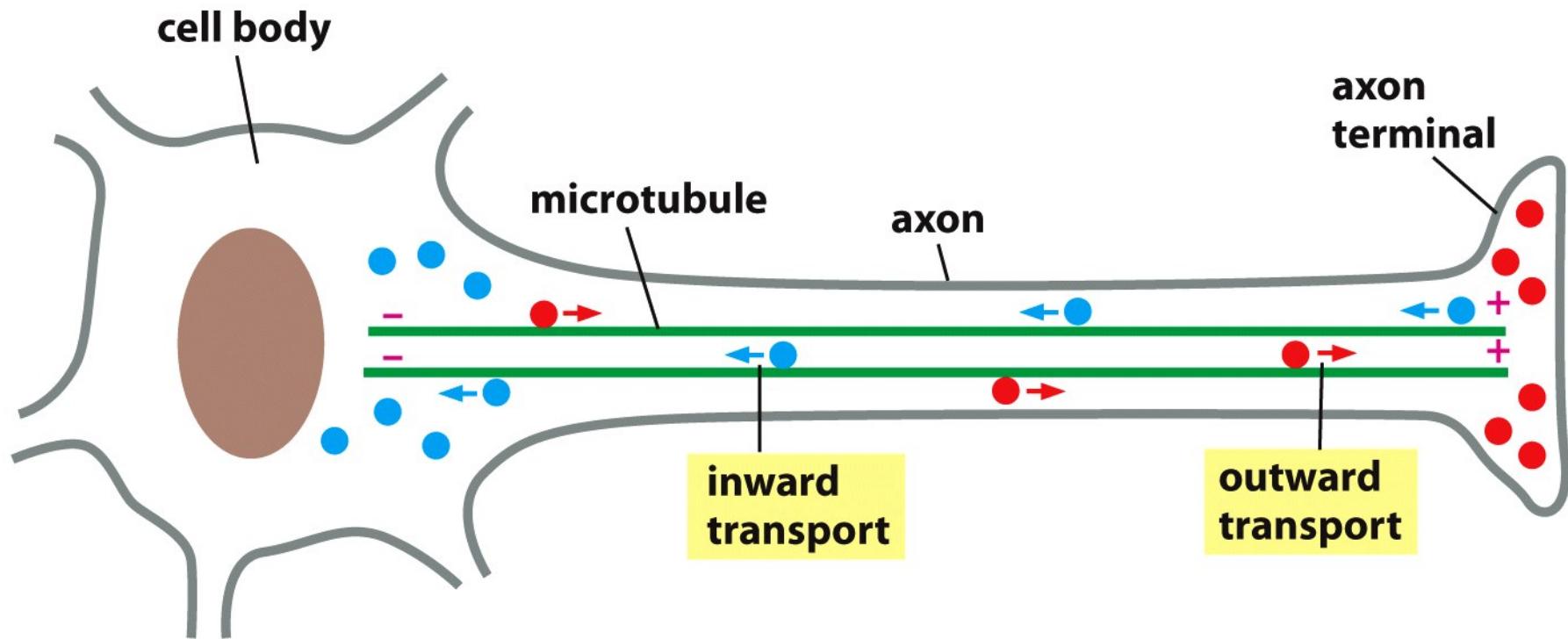
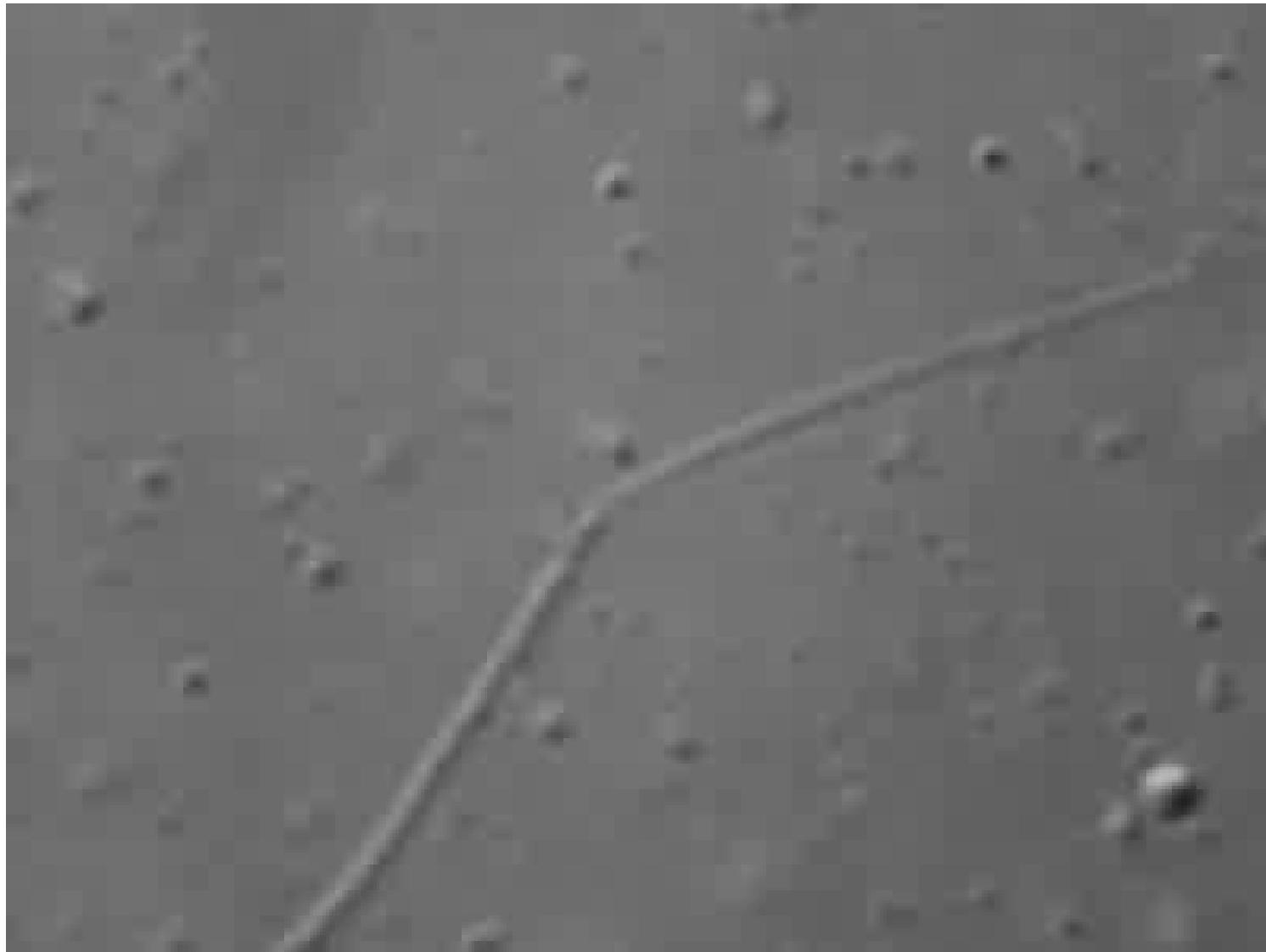
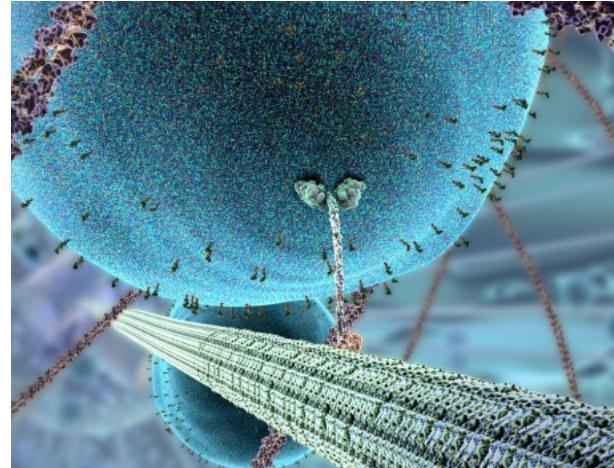
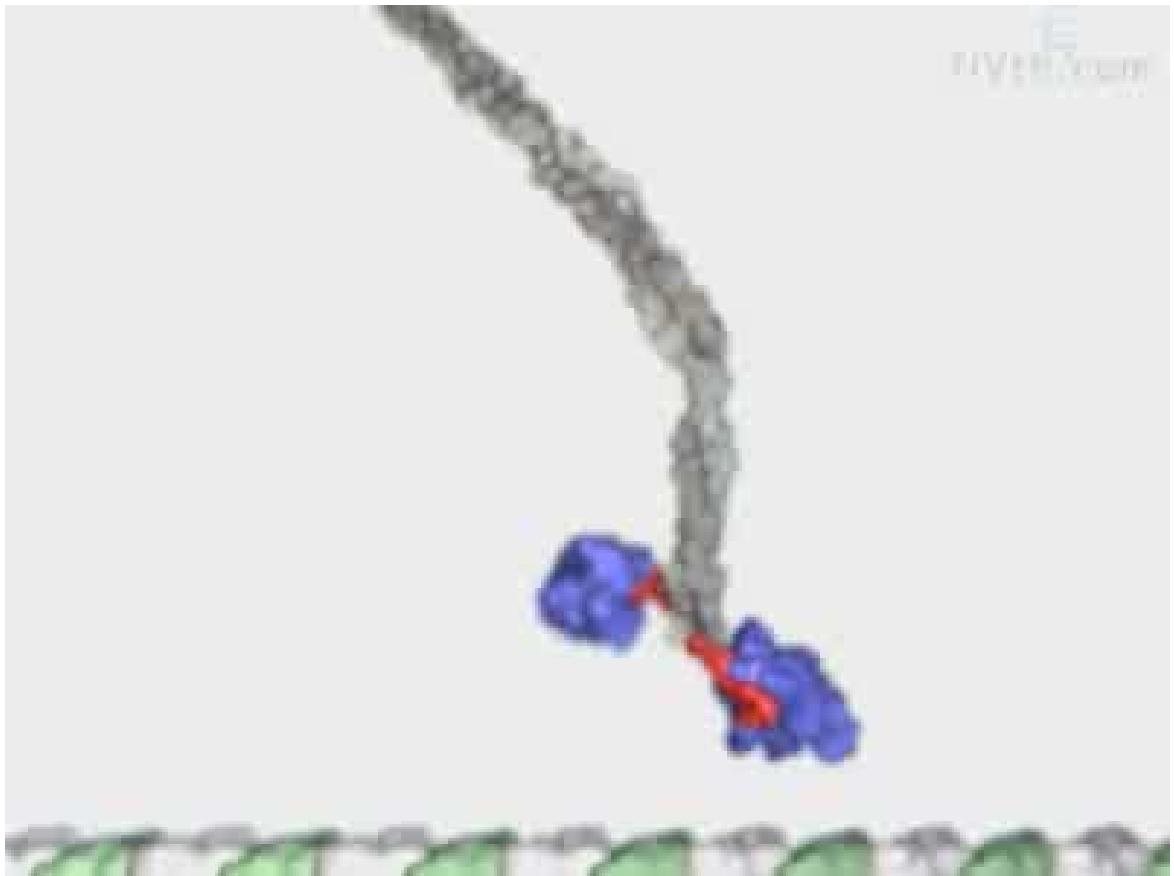


Figure 17-14 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

Abb. 3: Molekulare Motoren transportieren Vesikel entlang von Mikrotubuli innerhalb des Axons einer Nervenzelle. [Alberts et al., *Essential Cell Biology*, 2010]

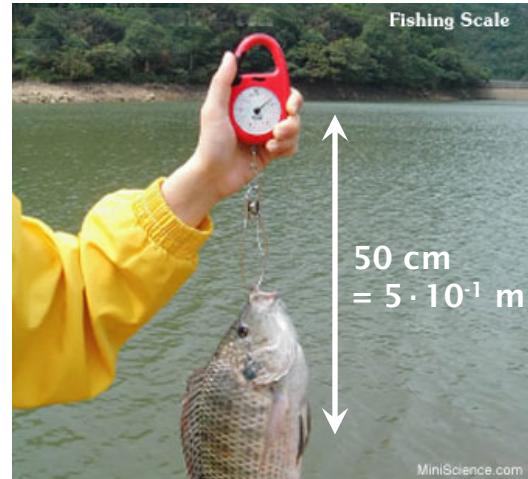
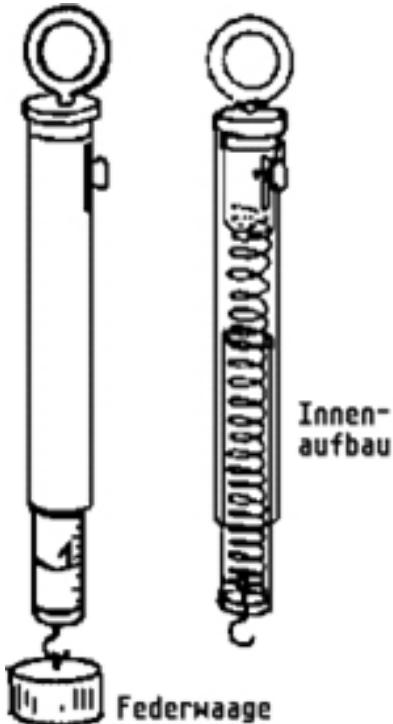


Film 4: Motorproteine transportieren Vesikel entlang von Mikrotubuli *in vitro* (d.h. Vesikel, Motorproteine und Mikrotubuli wurden aus Zellen extrahiert). Differentialinterferenzmikroskopische Aufnahme (DIC). [Alberts et al., 2010]

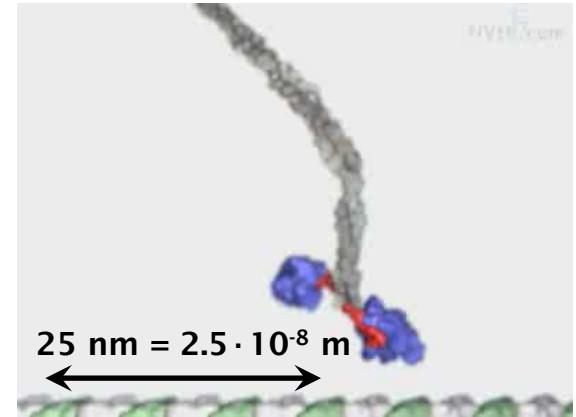


Film 5: Molekulares Modell eines Kinesin Motors, der entlang eines Mikrotubulus läuft. [Graham Johnson, <http://fifth.com>]

Federwaage: Kraft proportional zur Auslenkung $F = \kappa \cdot x$



$$F \approx 100 \text{ N}$$



$$F \approx 1 \text{ pN} = 10^{-12} \text{ N}$$

Abb. 4: Kraftmessung mithilfe einer Federwaage.

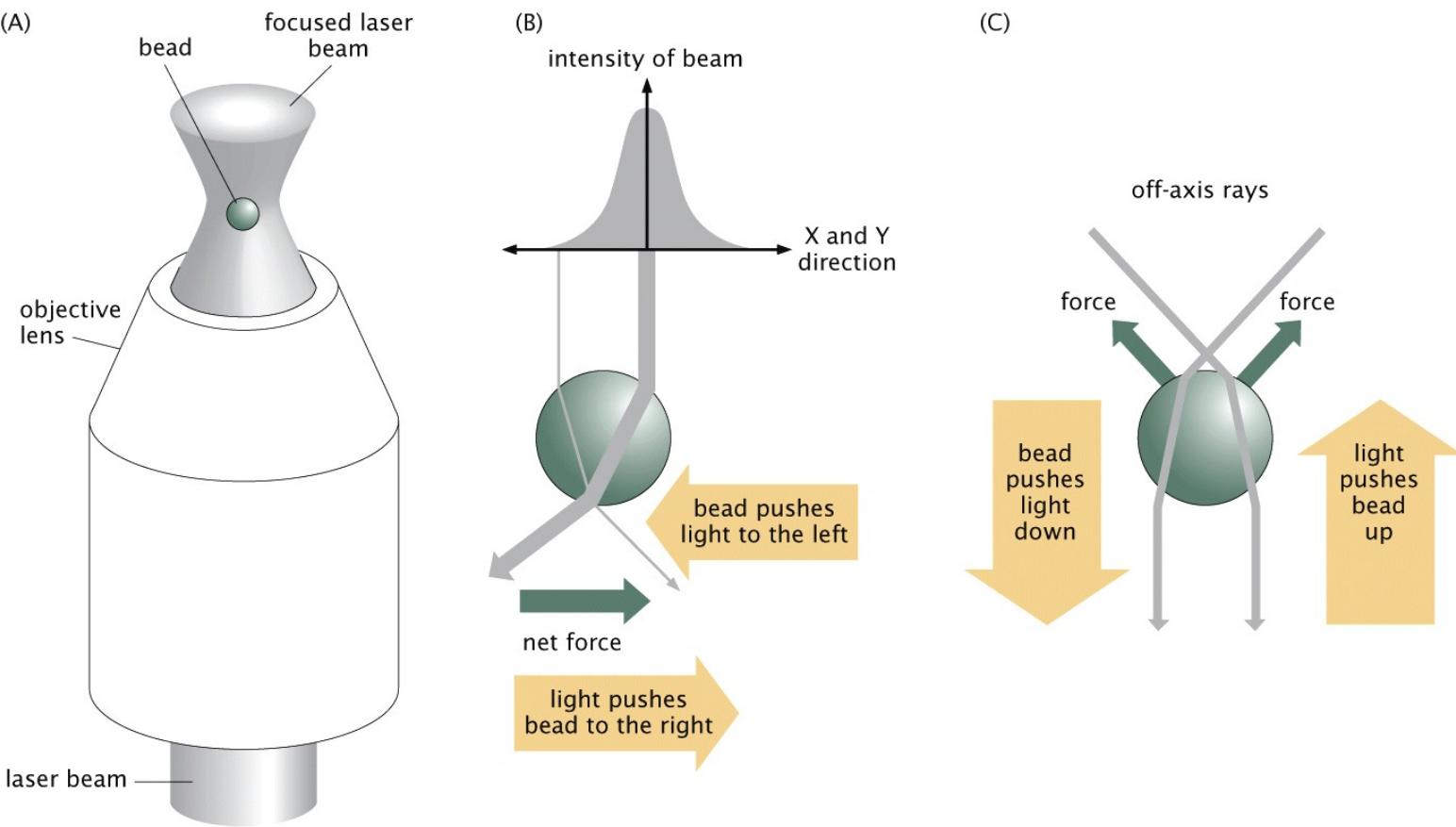


Figure 4.11 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 5: Schematischer Aufbau und vereinfachtes Wirkungsprinzip einer optischen Falle. (A) Eine optische Falle kann erzeugt werden, indem ein Laserstrahl mithilfe eines Objektivs mit einer hohen numerischen Apertur stark fokussiert wird. Durch die resultierenden optischen Kräfte (B und C) können kleine Kugelchen mit einem Durchmesser in der Größenordnung eines Mikrometers in 3D gefangen werden. Wird ein gefangenes Kugelchen vom Fallenmittelpunkt fortbewegt, so wirken rückstellende Kräfte, die proportional zu Auslenkung sind → Mikro-Federwaage. [Phillips et al., 2012].

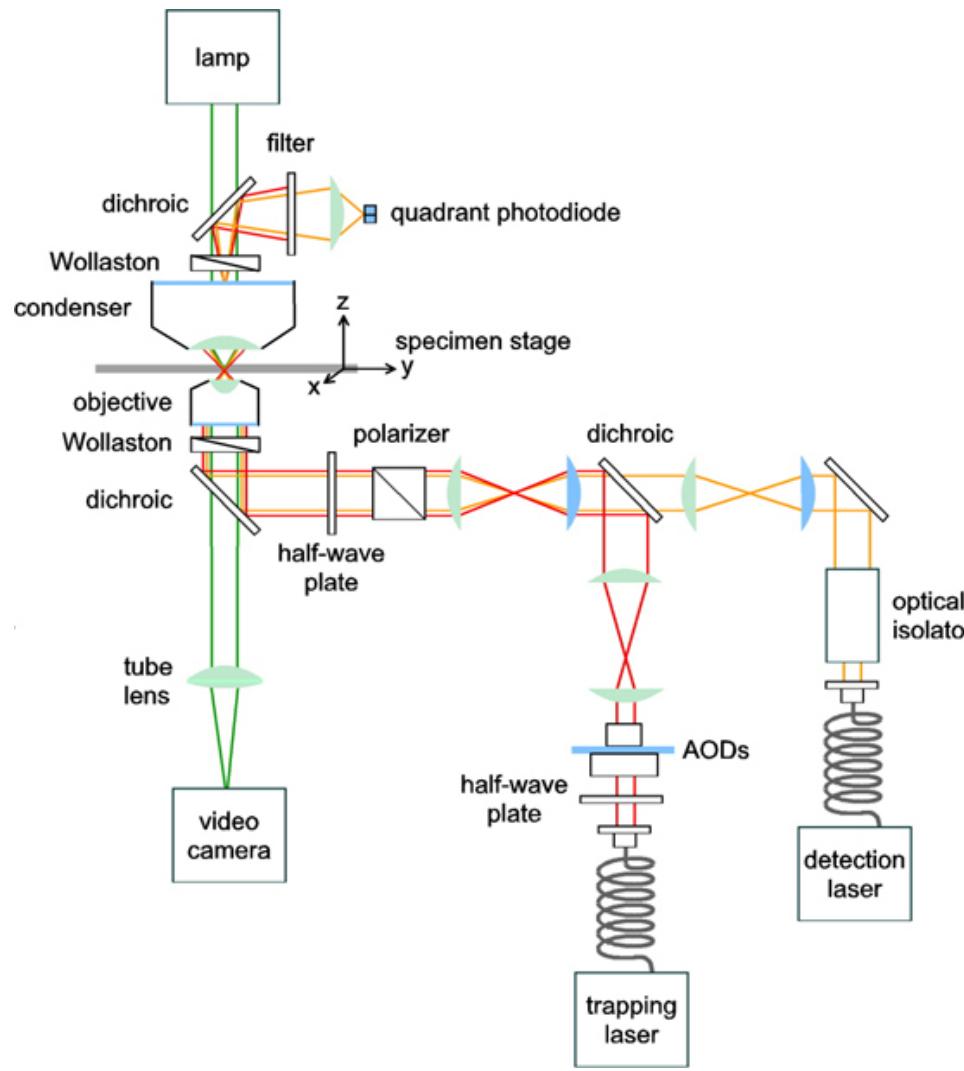
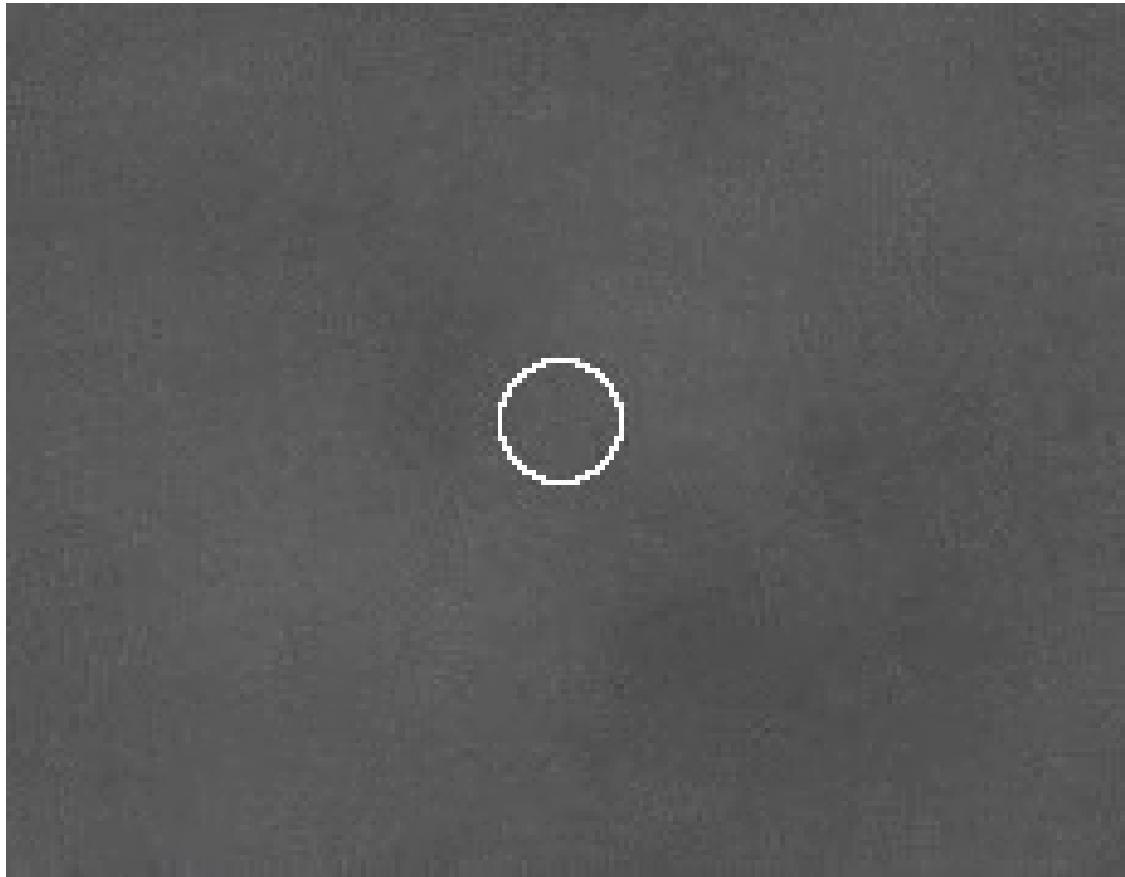


Abb. 6: Schemazeichnung des Aufbaus eines Mikroskops mit optischer Pinzette. In dem hier skizzierten Aufbau wird neben dem „Fanglaser“ zur Erzeugung der optischen Falle ein separater „Detektionslaser“ zur interferometrischen Positions-detection des gefangenen Partikels verwendet. [Steve Block, Stanford University].



Film 6: Ein diffundierendes Partikel wird durch optische Kräfte in eine optische Pinzette gezogen und dort festgehalten. Aufgrund der thermischen Bewegung fluktuiert die Position des Partikels um den Fallenmittelpunkt. Durch eine schrittweise Verringerung der Leistung des Fallenlasers nehmen die Fluktuationen zu, bis sie so groß sind, dass das Partikel aus der Falle entkommt [Holger Kress, EMBL Heidelberg].

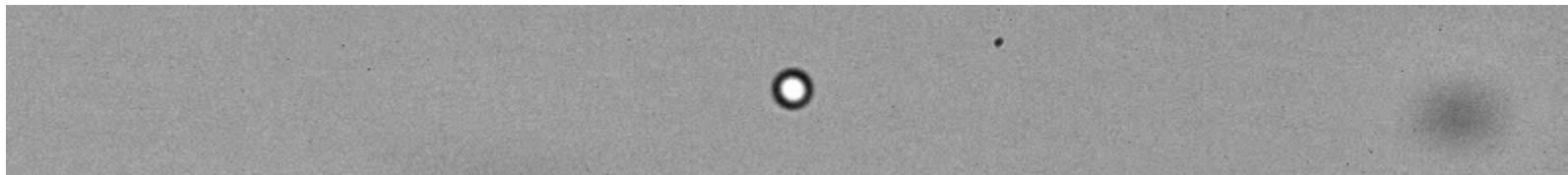
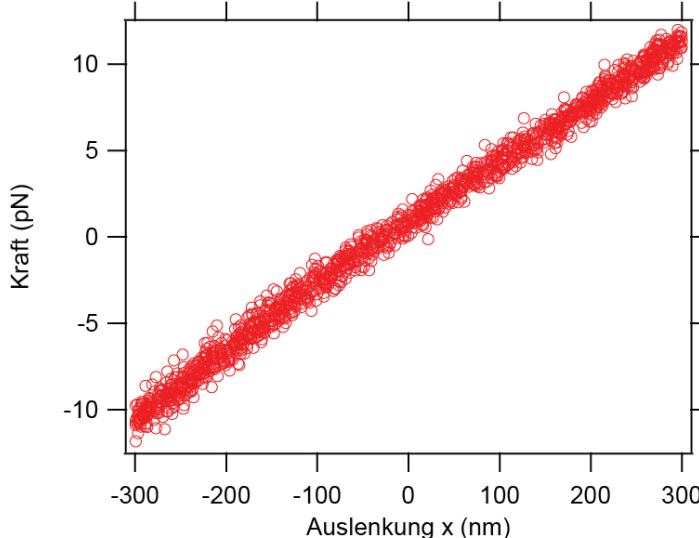
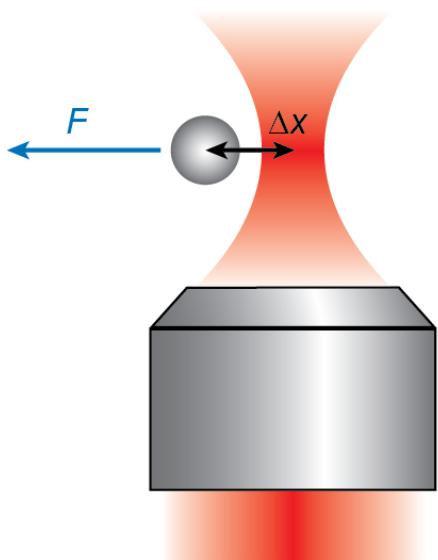
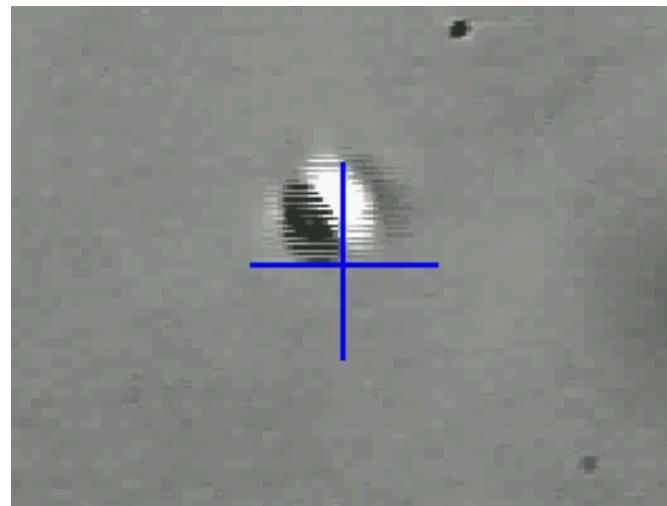
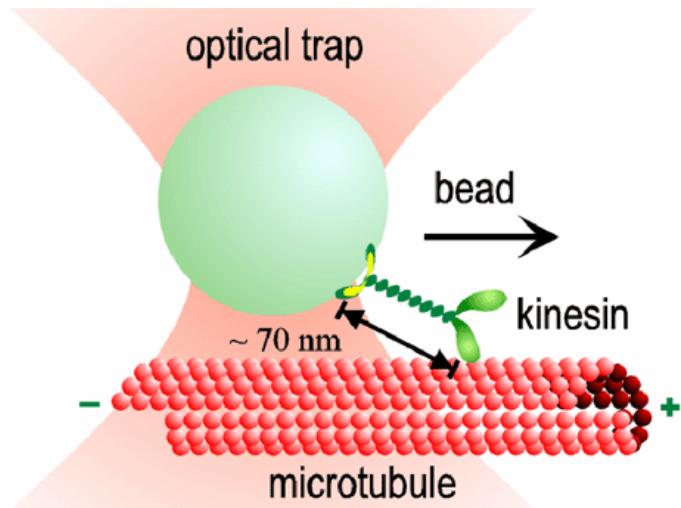
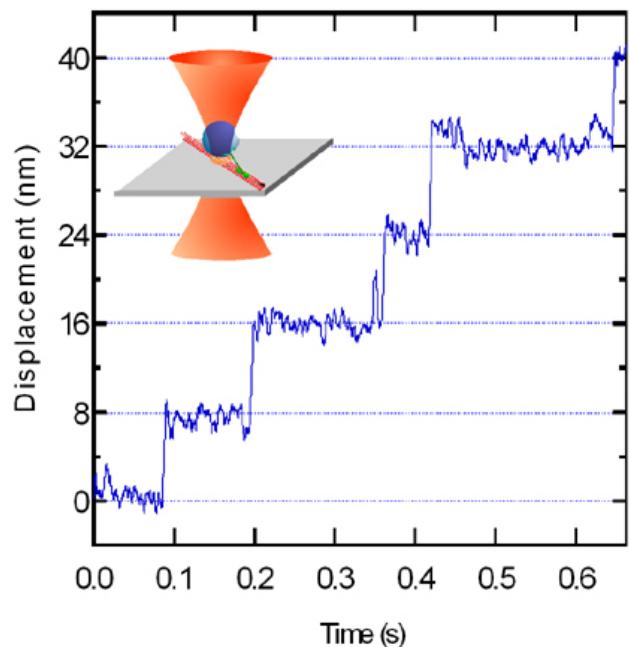


Abb. 7 und Film 7: Kalibrierung einer optischen Pinzette durch Ausübung einer wohldefinierten Kraft F auf ein gefangenes Kugelchen. Die Kraft ist in guter Näherung proportional zur gemessenen Auslenkung x des Partikels. Wohldefinierte Kräfte können durch periodische Bewegung der Probe hervorgerufen werden. Dadurch bewegt sich die umgebende Flüssigkeit relativ zu dem Partikel. Dies verursacht viskose Reibungskräfte auf das Partikel.



Gemessenen Maximalkraft von Kinesin-Motoren: 5 ... 8 pN

Abb. 8 und Film 8: Physikalische Charakterisierung der maximalen Zugkraft eines Kinesin Motorproteins. Ein an ein Motorprotein geheftetes Kügelchen wird mit einer optischen Pinzette gefangen und in die Nähe eines Mikrotubulus gebracht, so dass das Motorprotein an das Zellskelettfilament binden kann. Der Motor beginnt entlang des Mikrotubulus zu laufen und zieht das Kügelchen dabei aus dem Zentrum der optischen Falle heraus. Aus der Position, an der das Kügelchen in die Mitte der Falle zurückspringt, lässt sich die maximale Zugkraft des Motors bestimmen. [Bild: Steve Block Laboratory, Stanford University, Film: Joshua Shaevitz, Standford University]



Direct step size measurement

Pairwise distance distribution function

Abb. 9: Mithilfe von optischen Pinzetten mit interferometrischer Positionsdetektion lässt sich die Position eines gefangenen Kugelchens mit einer Präzision im Sub-Nanometer-Bereich messen. In den hier gezeigten Abbildungen sind Messungen der Schrittweite von Kinesin gezeigt. [Obere Abb.: Steve Block Laboratory, Untere Abb.: Svoboda, ..., Block, *Nature*, 1993]

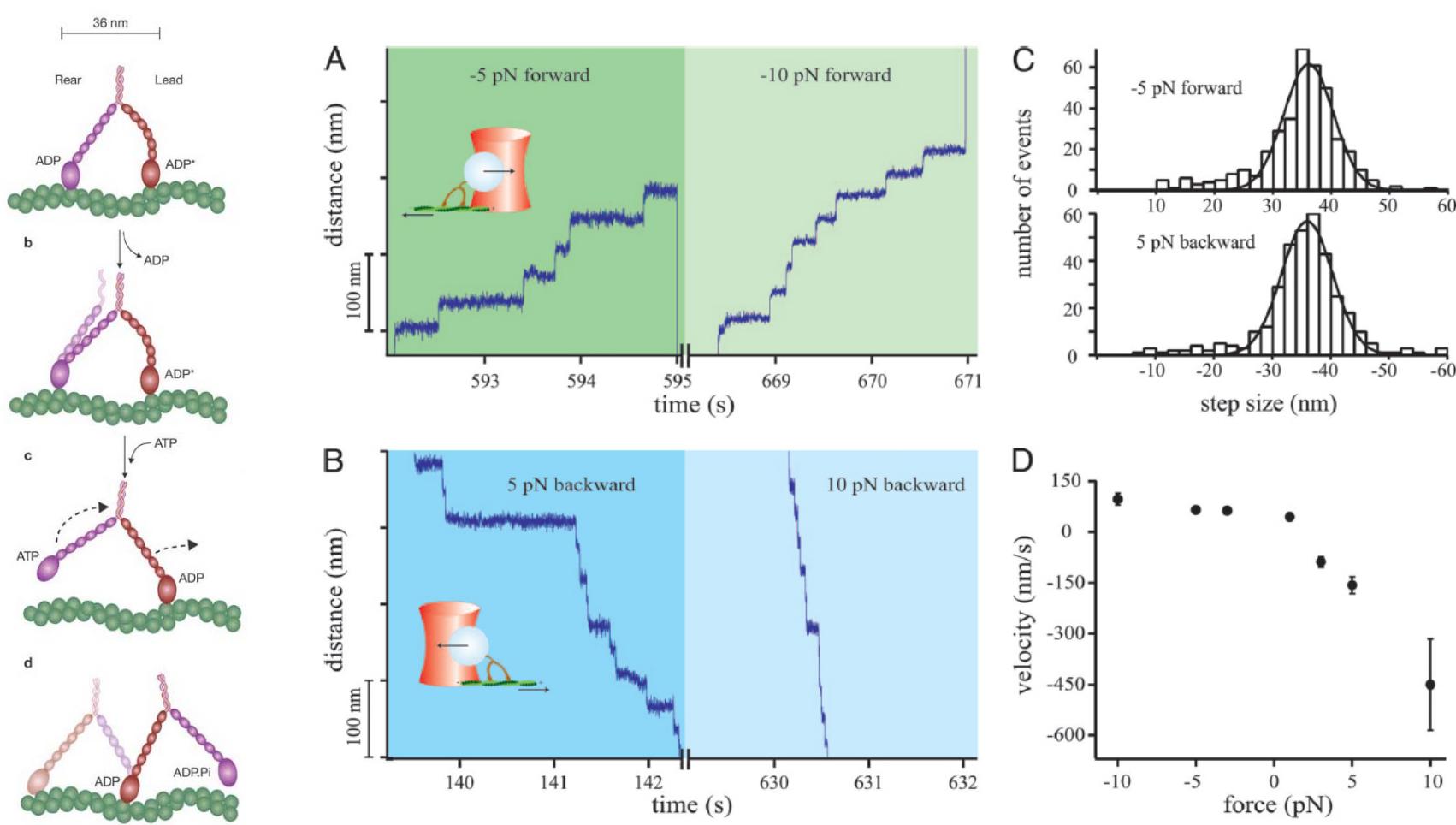


Abb. 10: Untersuchung der Geschwindigkeit und der Schrittweite von Myosin V Motoren als Funktion einer externen Kraft (Myosin V bewegt sich entlang von Aktinfilamenten, s. Abbildung links). Auf einzelne Motoren, die an Mikropartikel gebunden waren, wurden mit Hilfe von optischen Pinzetten Kräfte in Bewegungsrichtung (A) und entgegen der Bewegungsrichtung (B) ausgeübt. (C) Die Schrittweite des Motors hängt nicht von der ausgeübten Kraft F ab. (D) Die Geschwindigkeit des Motors hingegen hängt stark von F ab.
 [Abb. links: Trybus, *Nat. Cell Biol.*, 2005, A-D: Gebhardt et al., *PNAS*, 2006]

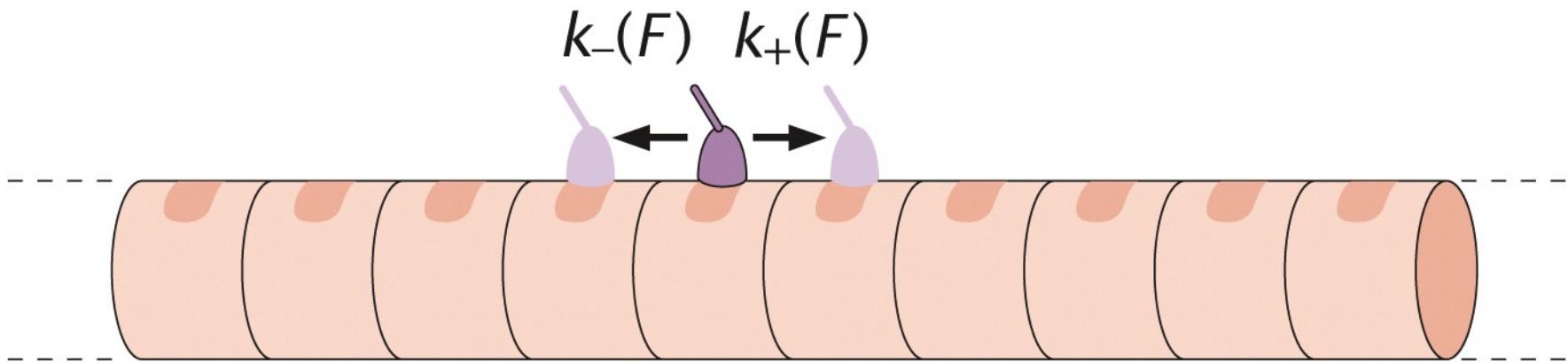


Figure 16.21 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 11: Schema eines molekularen Motors in einem erweiterten Ein-Zustands-Modell. Der Motor besitzt nur einen internen Zustand und springt von einer Bindungsstelle am Filament zur nächsten Bindungsstelle. Die kraftabhängigen Raten, mit denen sich der Motor vorwärts, bzw. rückwärts bewegt sind $k_+(F)$ bzw. $k_-(F)$. [Phillips et al., 2012]

TRAJECTORY

WEIGHT

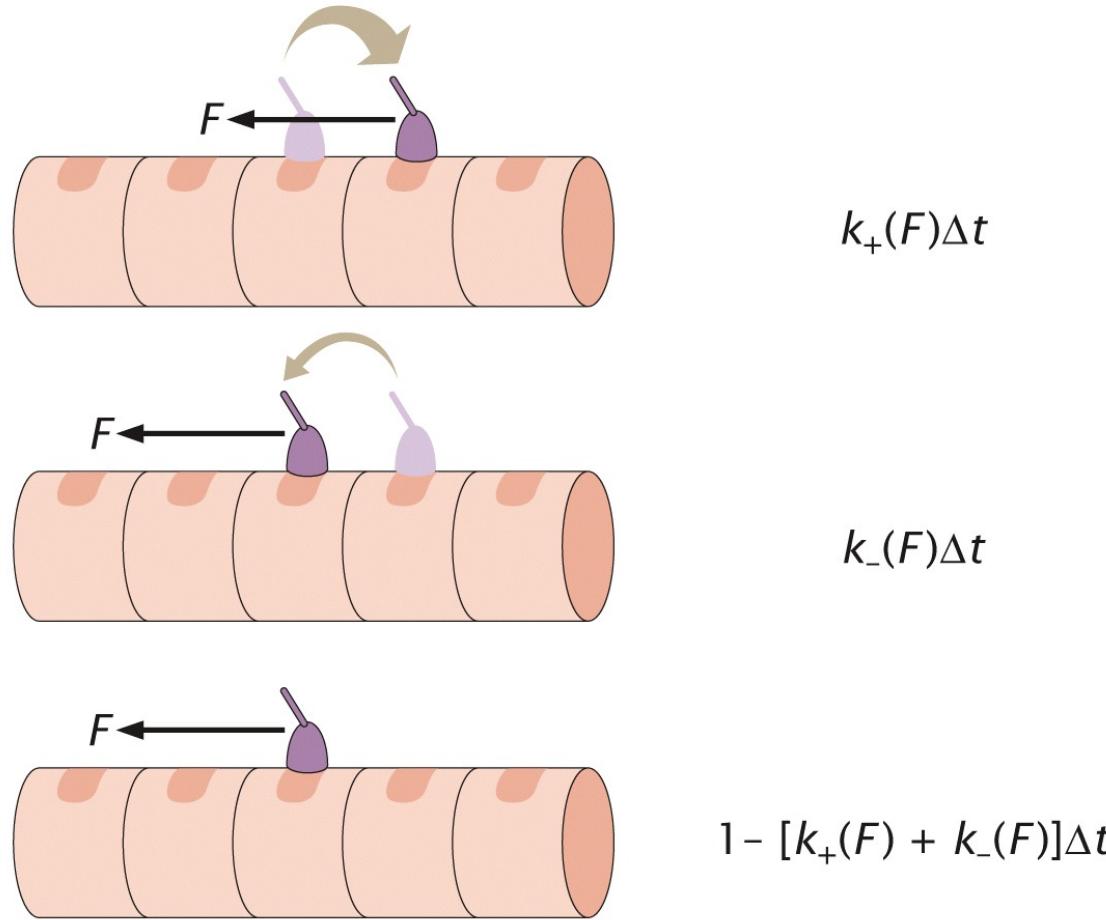


Figure 16.22 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 12: Mögliche Trajektorien eines molekularen Motors im erweiterten Ein-Zustands-Modell. Das statistische Gewicht eines Schrittes nach vorne ist $k_+(F)\Delta t$, das Gewicht für einen Schritt nach hinten ist $k_-(F)\Delta t$ und das Gewicht für den Fall, dass der Motor stehen bleibt beträgt $1 - [k_+(F) + k_-(F)]\Delta t$. [Phillips et al., 2012]

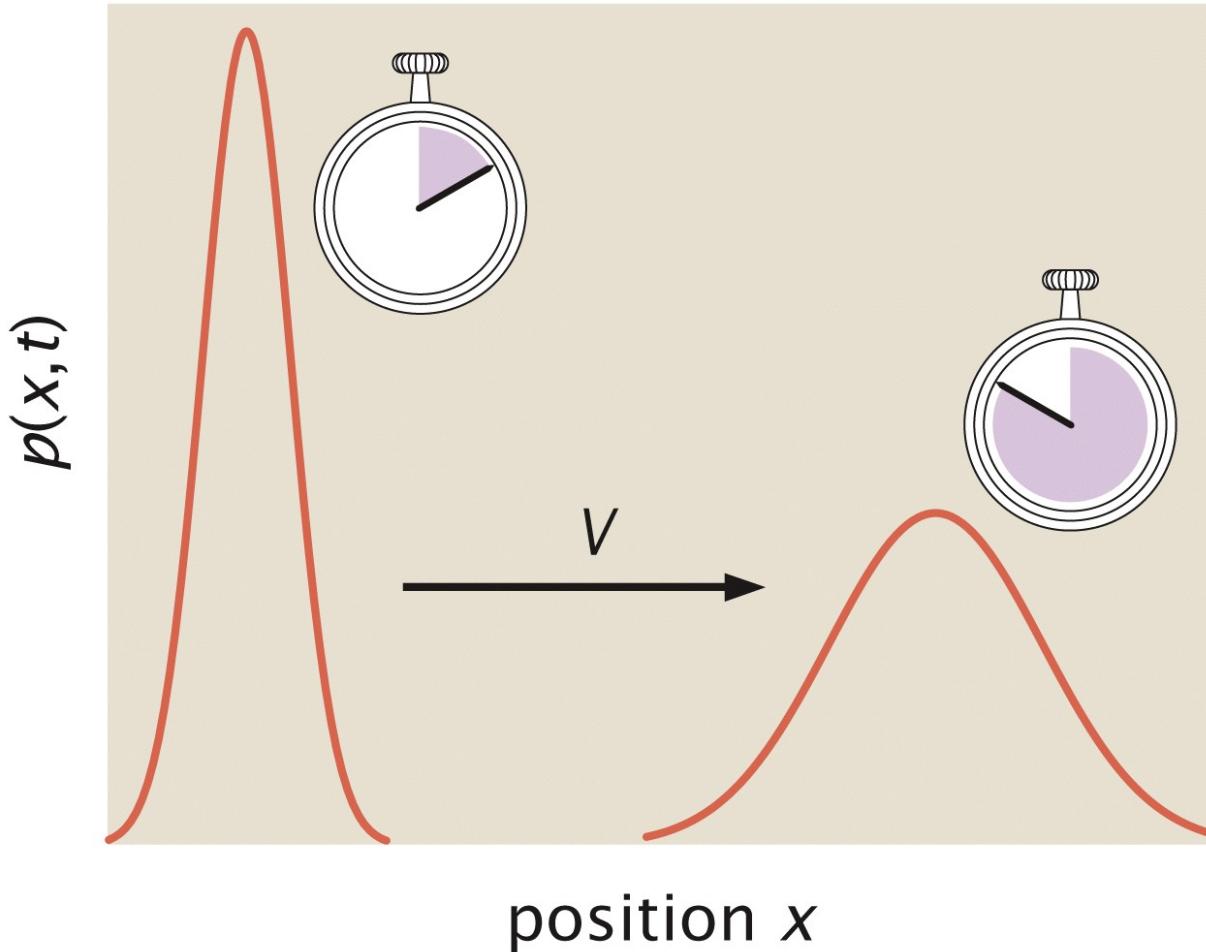


Figure 16.23 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 13: Lösungen der Gleichung für Diffusion mit Drift. Das Zentrum der Verteilung bewegt sich gerichtet mit einer konstanten Geschwindigkeit, während die Breite der Verteilung wie bei der gewöhnlichen Diffusion mit der Zeit zunimmt. [Phillips et al., 2012]

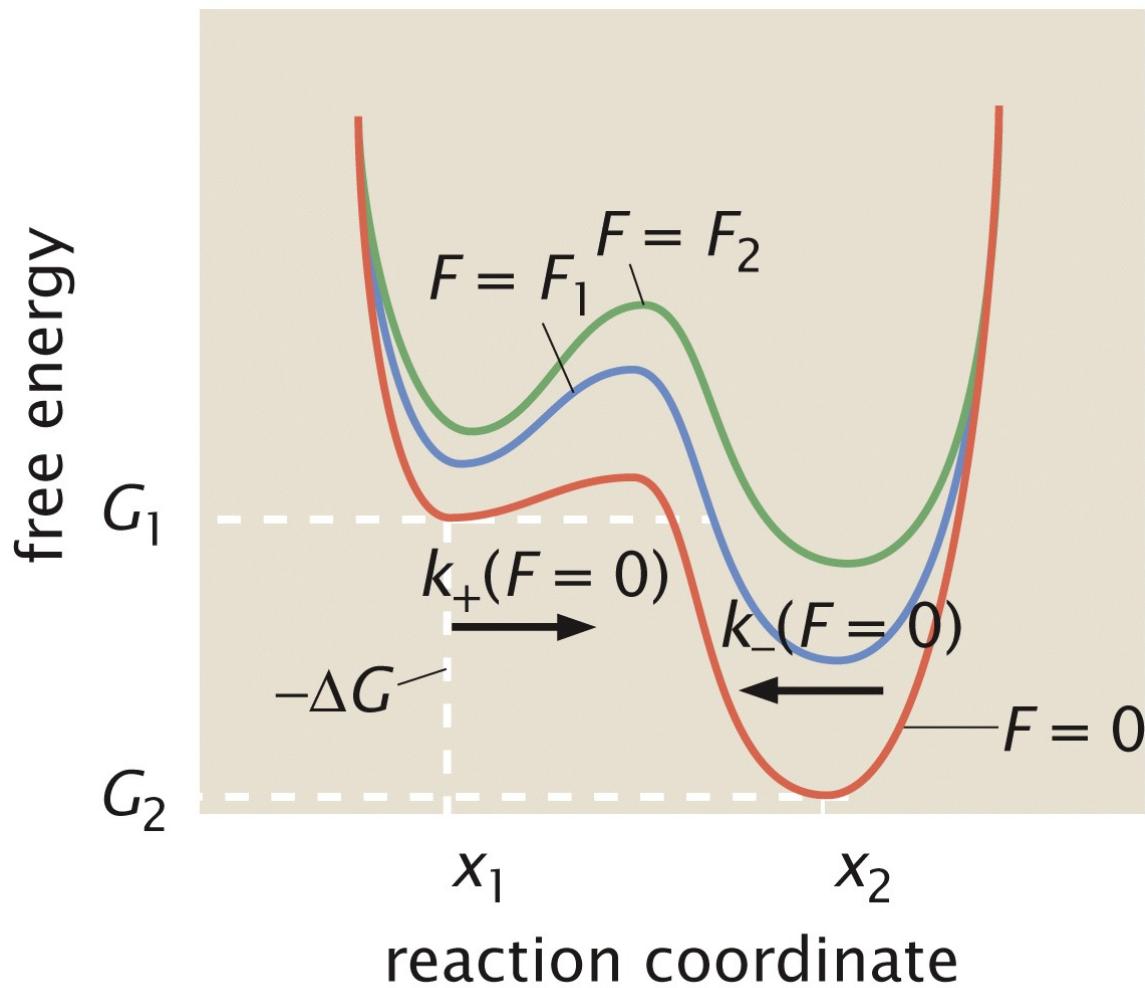


Figure 16.25 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 14: Energienlandschaft eines molekularen Motors im erweiterten Ein-Zustands-Modell. Ohne externe Kraft ($F = 0$, schwarze Kurve) beträgt der Energieunterschied zwischen den beiden Positionen $\Delta G = G_2 - G_1$. Wird eine rückwärts-ziehende externe Kraft $F = F_1$ bzw. $F = F_2$ angelegt, so verringert sich der Energieunterschied und die Rückwärtsrate k_- nimmt relativ zur Vorwärtsrate k_+ zu. [Phillips et al., 2012]

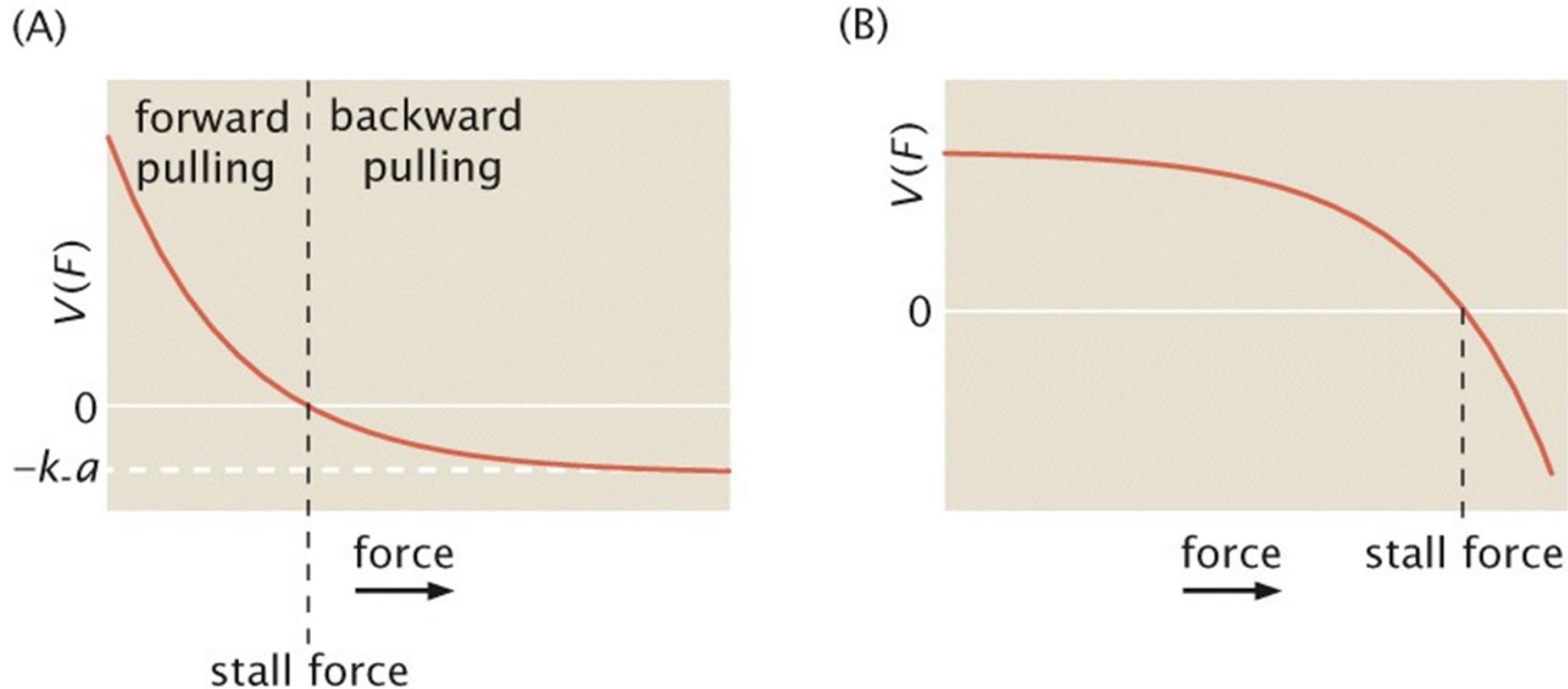


Figure 16.27 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 15: Geschwindigkeit eines molekularen Motors als Funktion einer externen Kraft F im erweiterten Ein-Zustands-Modell. (Links) In diesem Fall wird angenommen, dass nur die Vorwärtsrate k_+ von F abhängt. (Rechts) In diesem Fall wird angenommen, dass nur die Rückwärtsrate k_- von F abhängt. [Phillips et al., 2012]

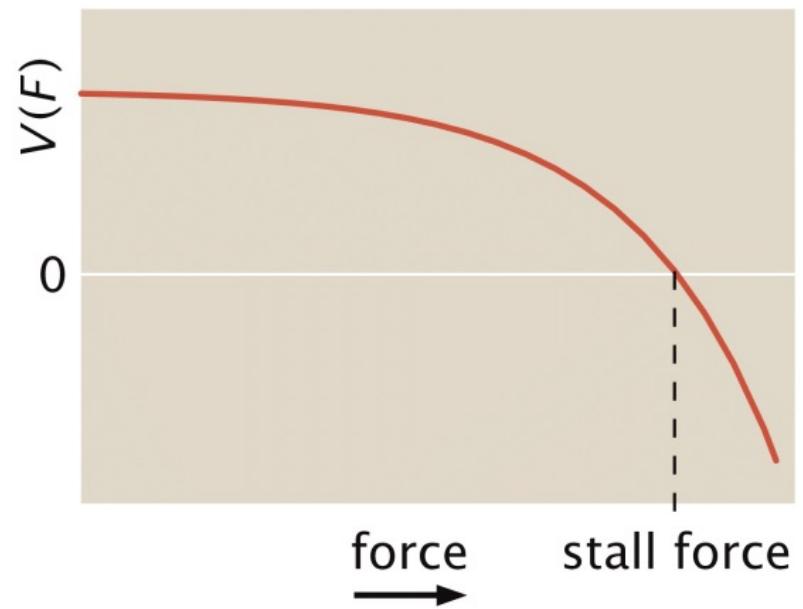
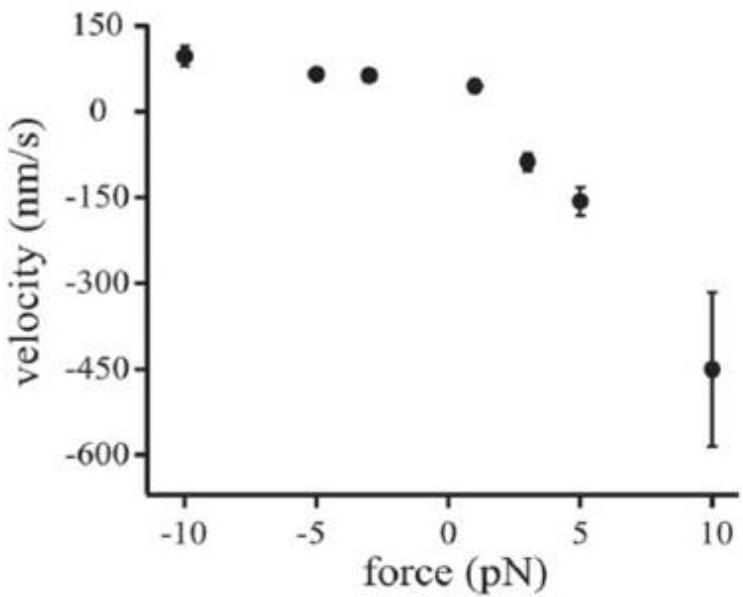


Figure 16.27b Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 16: Abhängigkeit der Geschwindigkeit eines molekularen Motors von der angelegten Kraft. (Links) Messung der Geschwindigkeit von Myosin V als Funktion der angelegten Kraft. Die Kraft-Geschwindigkeits-Kurve ist in qualitativer Übereinstimmung mit dem erweiterten Ein-Zustands-Modell, bei dem nur die Rückwärtsrate k_- von der Kraft abhängt (Rechts). [Linke Abb. aus Gebhardt et al., PNAS, 2006; Rechte Abb. aus Phillips et al., 2012]

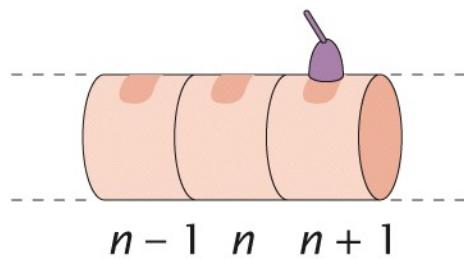
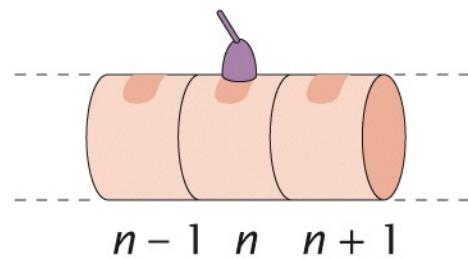
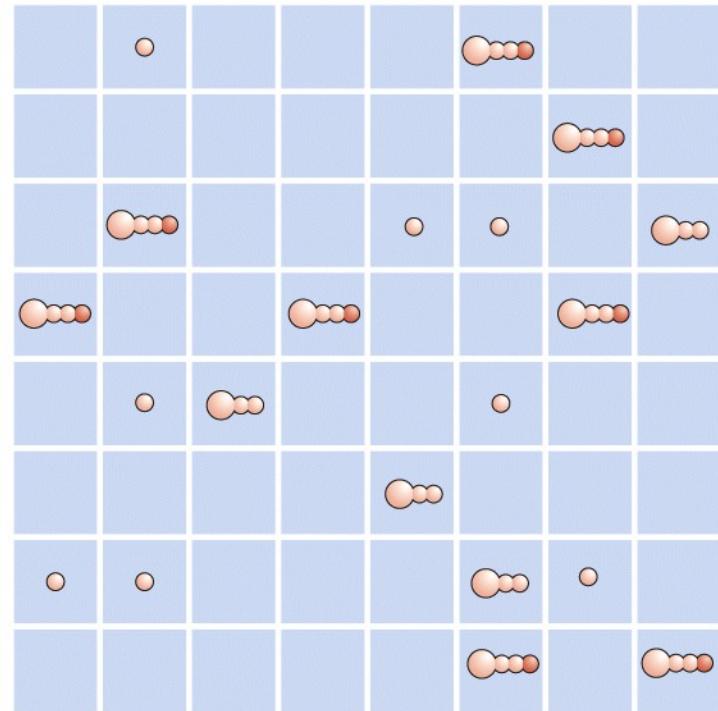
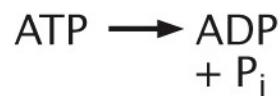
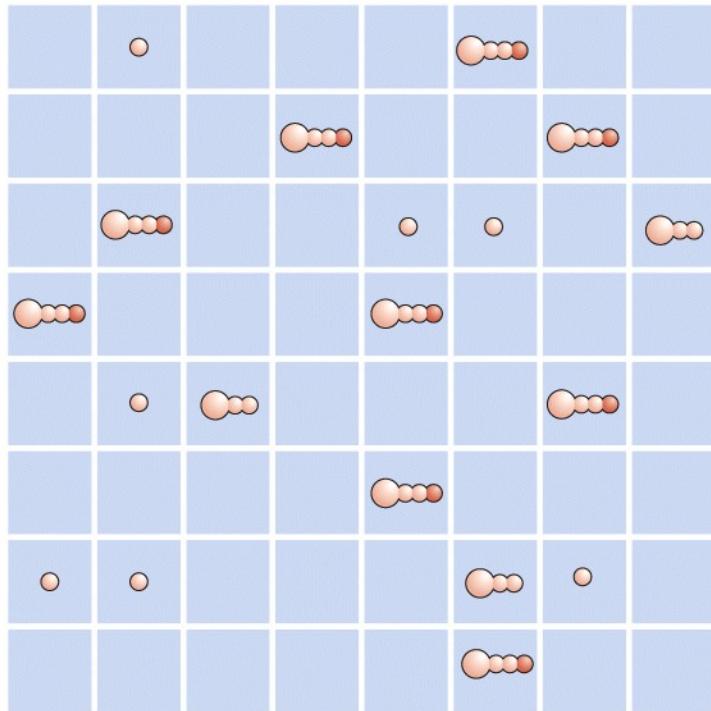


Figure 16.30 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 17: Gittermodell für den Einfluss der Konzentrationen von ATP, ADP und Phosphat auf die Bewegung molekularer Motoren. Für jeden Schritt des Motors hydrolysiert ein ATP Molekül und die Anzahl an ATP-Molekülen sinkt um 1, während die Anzahl der ADP-Moleküle und der Phosphatreste um 1 ansteigt. [Phillips et al., 2012]

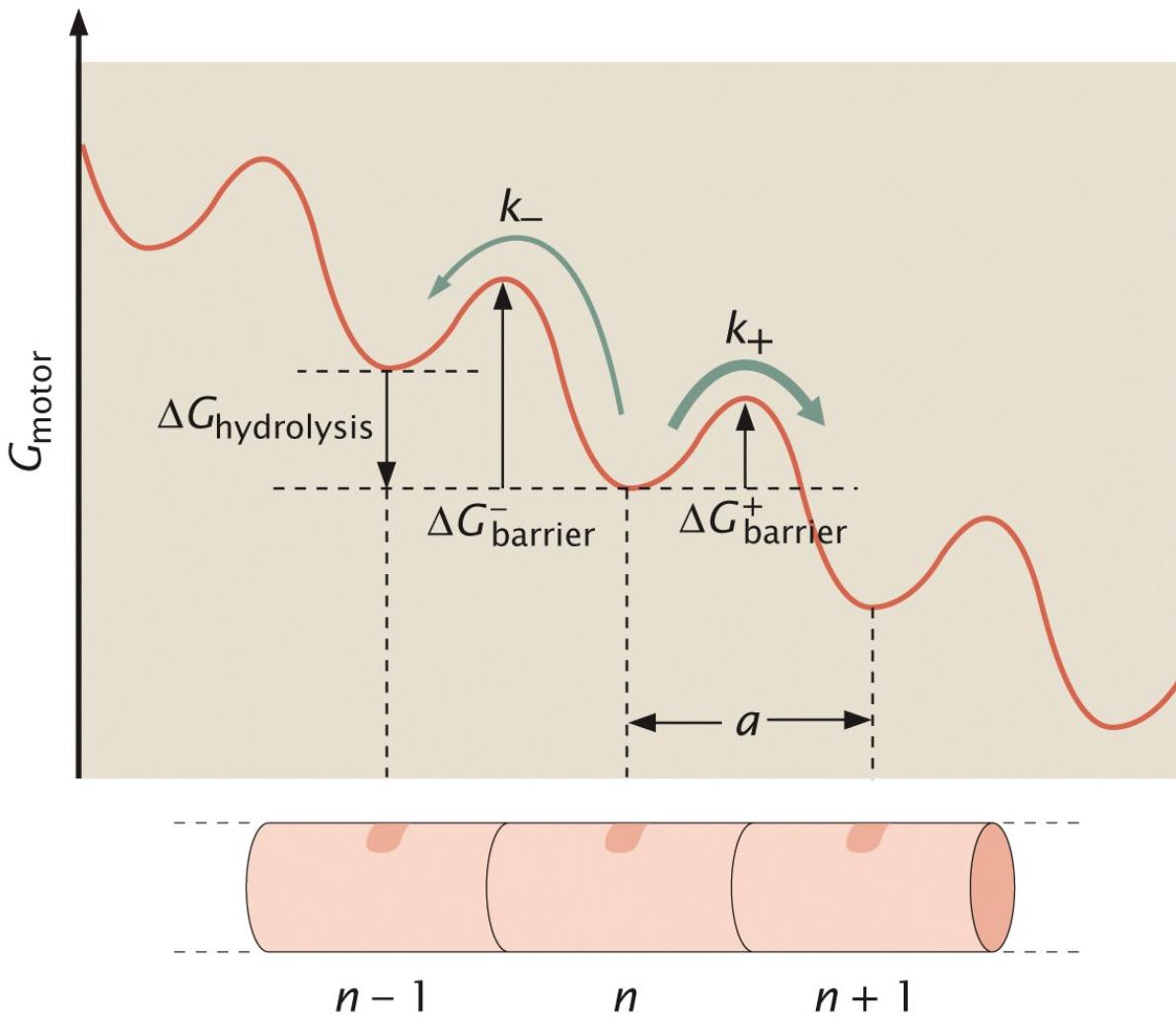


Figure 16.29 Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 18: Energienlandschaft für einen Motor, der sich entlang eines Filaments bewegt. Die Vorwärts- und Rückwärtsraten der Bewegung sind durch die Energiebarrieren zwischen den Positionen $n - 1$, n , $n + 1$, etc. bestimmt. Da das Potential im Mittel nach rechts hin abfällt, bewegt sich der Motor im Mittel in diese Richtung. [Phillips et al., 2012]

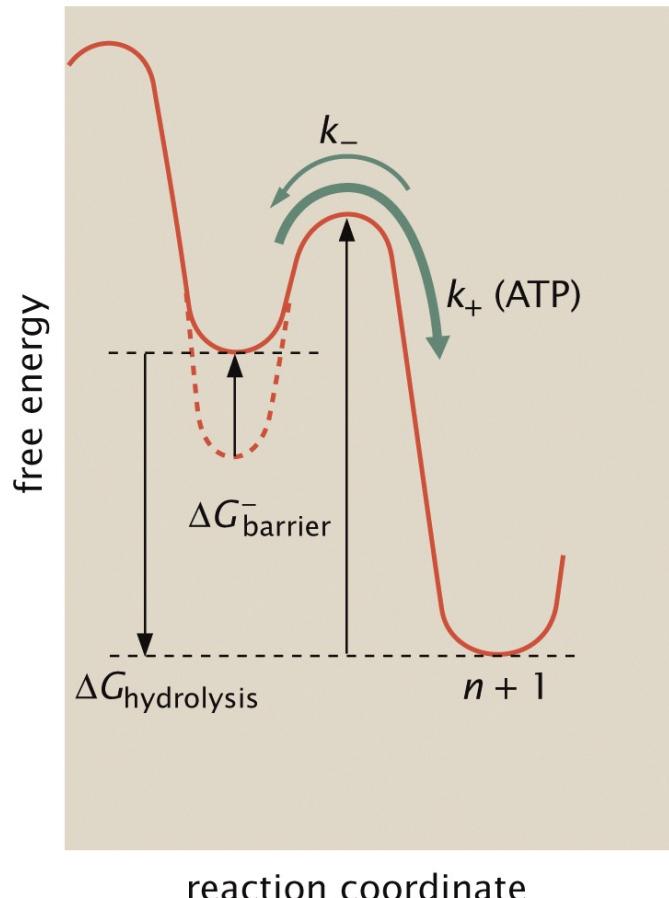


Figure 16.31b Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

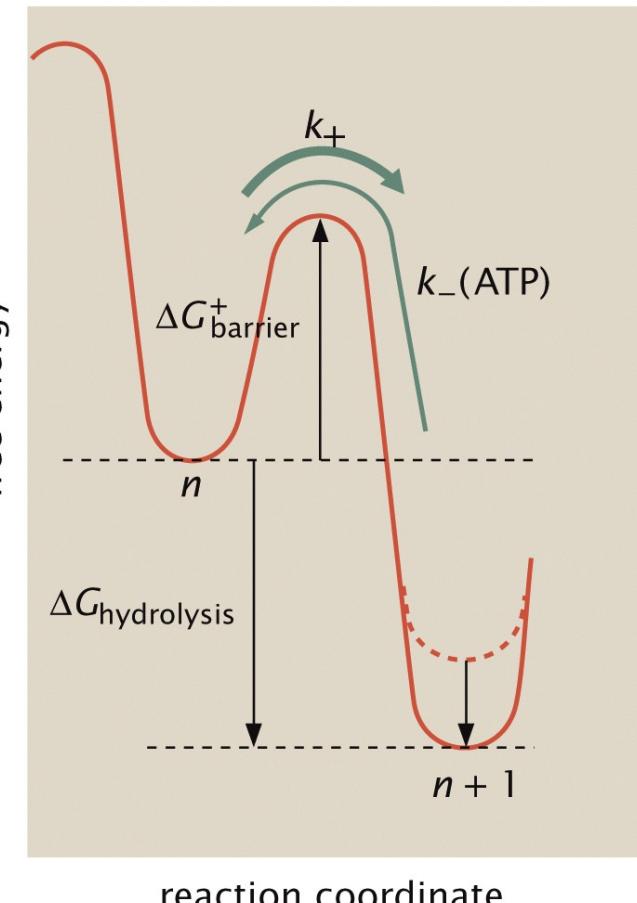


Figure 16.31a Physical Biology of the Cell, 2ed. (© Garland Science 2013)

Abb. 19: Möglichkeiten für die ATP-Abhängigkeit der Vorwärts- bzw. Rückwärtsraten. (Links) Nur die Vorwärtsrate hängt von ATP ab. Die Rückwärtsrate bleibt unbeeinflusst. (Rechts) Nur die Rückwärtsrate hängt von ATP ab. Die Vorwärtsrate bleibt unbeeinflusst. Die gestrichelten Linien repräsentieren die Energielandschaften für niedrigere ATP-Konzentrationen und die Pfeile die Veränderung der Landschaften, wenn sich die ATP-Konzentration erhöht. [Phillips et al., 2012]

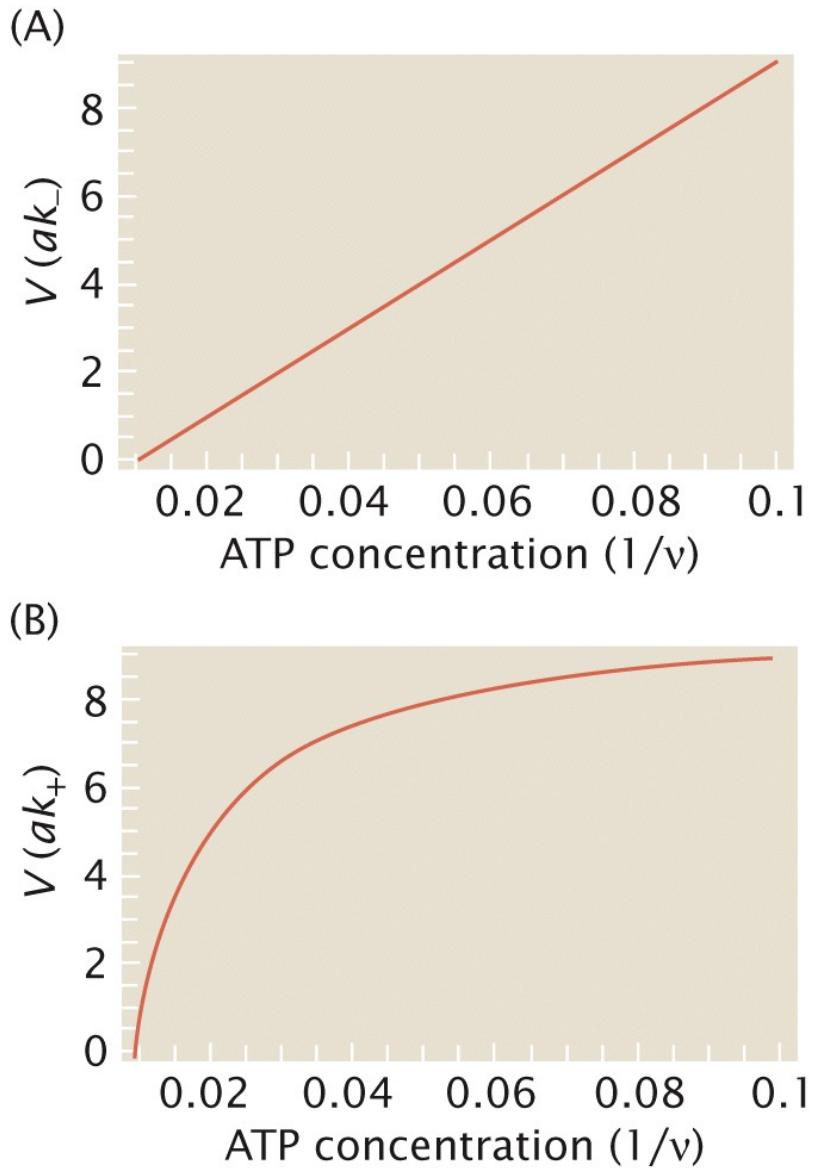
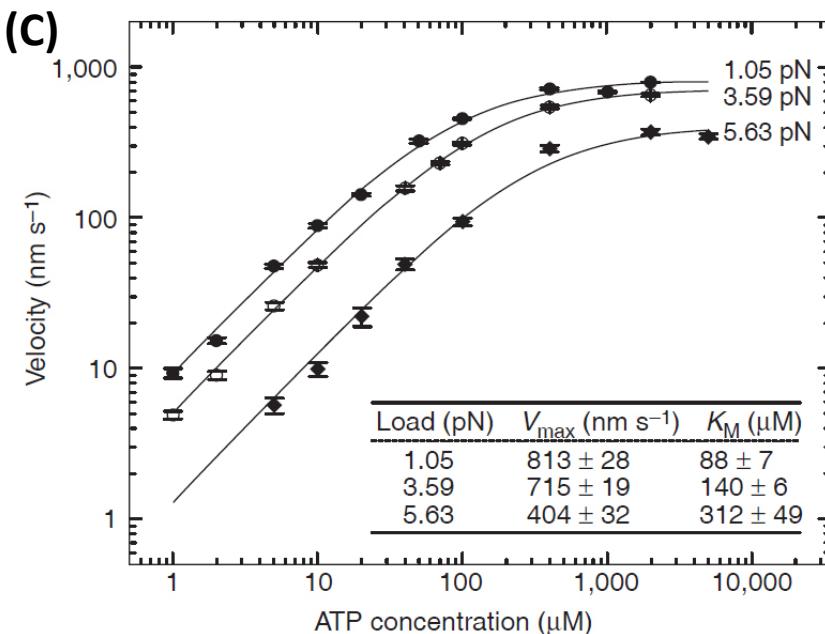
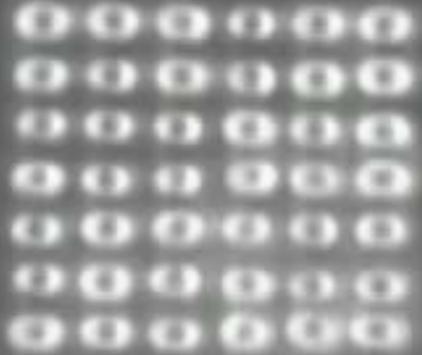


Abb. 20: Geschwindigkeit eines molekularen Motors als Funktion der ATP Konzentration.
 (A) Motor Geschwindigkeit im erweiterten Ein-Zustands-Modell für den Fall, dass nur die Vorwärtsrate der Bewegung von der ATP-Konzentration abhängt. (B) Motor Geschwindigkeit im erweiterten Ein-Zustands-Modell für den Fall, dass nur die Rückwärtsrate ATP-abhängig ist. (C) Experimentelle Daten von Kinesin-Motoren zeigen eine Konvergenz zu konstanten, aber kraftabhängigen Geschwindigkeiten für große ATP-Konzentrationen [A und B aus Phillips et al., 2012 und (C) aus Visscher et al. *Nature*, 1999]



real-life Tetris



© 2002, Vrije Universiteit

Vrije Universiteit Amsterdam