

74635 Molekylær biofysikk EKSAMEN 12. DESEMBER 1997. LØSNINGSFORSLAG.

Dette er en presis, men kortfattet besvarelse. For å oppnå karakteren 1.0 må flere figurer være med og gjerne noe mer fylldig tekst. I dette løsningsforslaget er istedet henvist til kompendiet i Molekylær biofysikk. Kap. og Fig. referanser til 1997-utgaven av kompendiet.

Oppgave 1a.

(Kap. 8.1.2). Osmolaritet er definert i samband med semipermeabel membran og lik antall mol enkeltpartikler(ioner) pr volum som ikke slipper gjennom membranen.

Osmotisk trykk blir $\pi = 310 \text{ mM} \cdot R \cdot T = 310 \text{ mol/m}^3 \cdot R \cdot T = 754 \cdot 10^3 \text{ N/m}^2 = 7,5 \text{ atm}$.

NaCl oppløst gir to ioner, slik at 0,155 M NaCl gir 0,310 Osmolar løsning.

Dvs. $0,155 \text{ mol/l} \times 58,5 \text{ g/mol} = 9,07 \text{ g/l}$.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (molvekt 178 g/mol inkl. krystallvann) gir tre ioner ved pH 7,6: $\text{Na}^+ + \text{Na}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$ (pK-verdier for fosforsyre fra SI Chemical data)

0,103 M salt derfor tilstrekkelig, dvs. $0,103 \text{ mol/l} \times 178 \text{ g/mol} = 18,3 \text{ g/l}$.

Oppgave 1b.

(Kap. 8.1.3) Makromolekylet PB_z dissosierer i løsning: $\text{PB}_z \rightarrow \text{P}^{z+} + z \cdot \text{B}^-$.

Polyelektrolytten P^{z+} er immobilisert pga. bundet i et nettverk, derfor fungerer nettverksoverflaten som en semipermeabel hinne. Ioner fra saltet i løsningen: $\text{A}^+ + \text{B}^-$ vil diffundere inn i nettverket. Selv om konsentrasjonen av B^- i utgangspunktet skulle være lik innenfor og utenfor vil A^+ diffundere inn (konsentrasjonsgradient), B^- trekkes med pga. krav om elektronøytralitet utenfor. Da blir antallskonsentrasjonen større inni nettverket enn utenfor, det oppstår et osmotisk trykk som vil forsøke utjamnes ved at vann trekkes inn (gelen sveller). Osmotisk trykk er proporsjonal med differanse i ionekonsentrasjon ΔI , dvs. $\pi = \Delta I \cdot RT$ (van't Hoffs lov). Det var uheldig å angi ionestyrke i oppgaveteksten, det skulle være ionekonsentrasjonen.

Det osmotiske trykket blir maksimalt dersom det er null saltkonsentrasjon utenfor. Da vil ingen B^- -ioner kunne diffundere ut pga. elektronøytralitet og maksimal ΔI oppnås. Med saltkonsentrasjon mye større enn $z[\text{P}]$ vil det store antall tilgjengelige A^+ og B^- utlikne forskjell i partikkeltall pga. polyelektrolytten og dens motioner. Nærmere beskrevet i likn. (8.22) og Fig. 8.3 i kompendiet, men dette kreves ikke i besvarelsen. En forenklet forklaring fra $\pi = \Delta I \cdot RT$, der $\Delta I = I_n - I_l$ avtar når ionekonsentrasjonen I_l i løsningen øker.

Oppgave 2a.

(Kap. 11.1.1-4 og 11.2.1). Magnetiske moment for kjernen (for NMR) eller for elektronene (for ESR) innrettes når et ytre magnetfelt \vec{B} påtrykkes, etter grunnregelen at magnetiske moment \vec{M} har lavest energi når $\vec{M} \parallel \vec{B}$. Momentenes retning (og størrelse) er kvantisert, f.eks. hvis kjernespin $\ell = 1$: $m_\ell = -1, m_\ell = 0$ eller $m_\ell = 1$. For elektronspinn: $m_s = +1/2$ eller $m_s = -1/2$. Lavest energi favoriseres, men ved termisk likevekt vil momentene fordeles på de ulike kvantetall ifølge Boltzmannfordelingen.

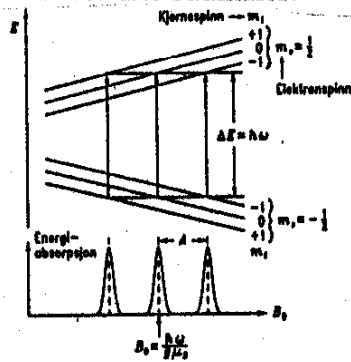
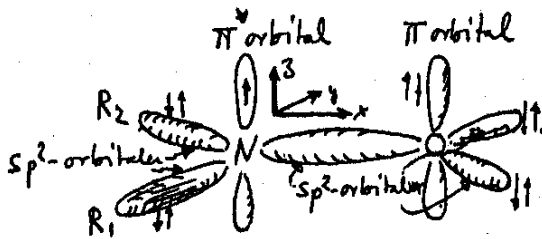
Momentene kan absorbere energi fra elektromagnetisk stråling ved å hoppe fra kvantetall med lav energi til høyere energi, energispranget er lik $\Delta m_\ell \cdot \gamma \hbar B$ (kjerner) og $\Delta m_s \cdot \gamma_e \hbar B$ (elektroner). Her er γ det gyromagnetiske forhold, som er $1000\times$ større for elektron enn kjerne. Denne energidifferansen tilsvarer fotonenergier i radiobølgeområdet for kjerner og i mikrobølgeområdet for elektroner.

Når elektromagnetisk bølge med rett frekvens sendes inn, observeres det et absorpsjonssignal som kan tolkes og gi informasjon om molekylstrukturen. Stikkord er her spinn-spinn-splitting, spinn-kjerne-splitting, relaksasjonstider.

Oppgave 2b.

(Kap. 11.2.3) NO-radikalet har 15 elektroner + 2 fra atomgruppene de er bundet til (se figuren=Fig. 11.17 i kompendiet). Elektronene er fordelt med 2 i hver av 1s-orbitalene, 2x5 i sp²-orbitalene, 2 i π-orbitalen nær O og ett i π*-orbitalen nær N. Dette siste elektronet er altså uparret og gir netto magnetisk moment for elektronet.

Alle stabile molekyler har netto elektronspinn lik null, og derfor også et magnetisk dipolmoment lik null. Molekyler som har uparrede elektroner kalles frie radikaler.



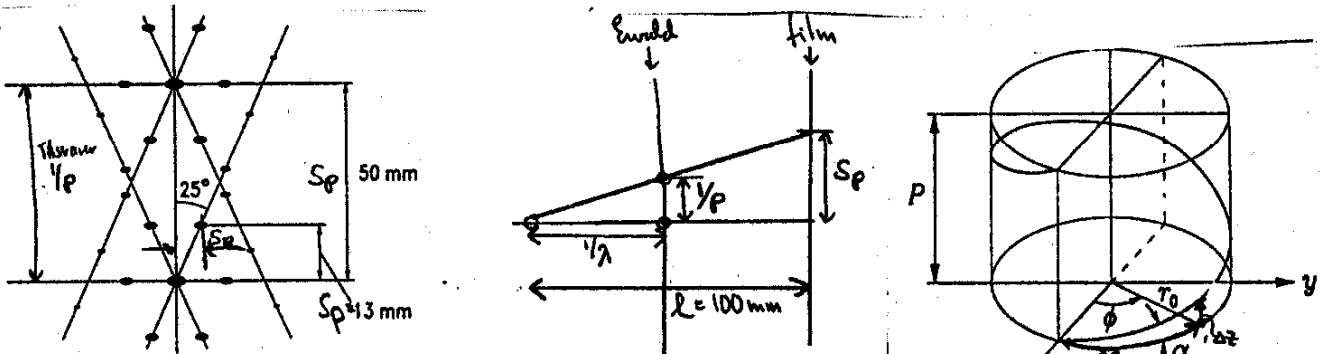
Det uparrede elektronet ser ulike lokale magnetfelt avhengig av tilstanden til kjernemomentet i N. Med kjernespin $\ell = 1$ kan kvantetallet være $m_\ell = 1, m_\ell = 0, m_\ell = -1$, dvs. tre ulike lokale magnetfelt for elektronet. Som beskrevet i 2a) absorberes fotonenergi lik $\Delta m_s \cdot \gamma_e \hbar B$. Når det lokale feltet B har tre ulike verdier, vil hver absorpsjonstopp splittes opp i tre (se figuren=Fig. 11.18 i kompendiet), dette kalles hyperfinsplitting.

Oppgave 3a.

(Kap. 14.2.) En "fiber" for røntgenfiberdiagram framstilles ved å tørke inn en prøve til en tynn film, kutte opp i strimler og strekke prøven ved kontrollert fuktighet. Molekylene vil da være opplinjjet i en retning (z-retningen), men det er ingen korrelasjon i de andre retninger (x og y), dvs. ingen krystallisering. Uten krystallisering vil strukturfaktoren $P^* = 1$, og ifølge oppgitt likning (=14.34) vil spredeintensiteten være lik $I = |\Xi^*|^2$. Dvs. diffraksjonsbildet er lik den Fouriertransformerte av en enkelt fiber.

Skal man ha nytte av fiberdiagrammet må molekylet har periodisk struktur. Den mest vanlige strukturen å studere er heliks-struktur (f.eks. α-heliks eller DNA). Den Fouriertransformerte av en heliks kan beregnes matematisk, og hvis vi fra en prøve gjenkjenner diffraksjonsbildet til å være diffraksjonen fra en heliks, kan vi sammenlikne med teorien, og dermed beregne heliksstigning, avstand mellom repeterende enheter og heliksradius. Man kan også fra utslukningsregler (systematisk fravær av visse diffraksjonspunkter) avgjøre om heliksen er enkelt-, dobbelt- eller trippelheliks.

Oppgave 3b.



(Kap. 14.2.1-2) Man må dra nytte av Ewalds konstruksjon for å finne hvor store resiproke avstander de oppgitte avstander på filmen tilsvarer. Ved å anta Ewaldkula har ubetydelig krumning og betrakte trekanten i figuren, vil vi finne (l = avstand prøve-film):

$$\frac{s_p}{l} = \frac{1/p}{1/\lambda} = \frac{\lambda}{p} \Rightarrow p = \lambda \cdot \frac{l}{s_p} = 0,10 \text{ nm} \cdot \frac{100}{50} = \underline{0,20 \text{ nm}}$$

$$\frac{s_P}{l} = \frac{1/P}{1/\lambda} = \frac{\lambda}{P} \Rightarrow P = \lambda \cdot \frac{l}{s_P} = 0,10 \text{ nm} \cdot \frac{100}{13} = \underline{0,77 \text{ nm}}$$

Stigningsvinkelen i heliksen er lik den angitte vinkel 25° på figuren, og opptegning av heliksen vil gi:

$$\tan \alpha \approx \frac{\Delta z}{\Delta s} = \frac{P}{2\pi r_0}$$

der Δs er lengden av projeksjonen av et helikssegment i xy -planet og Δz er stigningen for samme element, mens r_0 er radien. Vi løser ut radien:

$$r_0 = \frac{P}{2\pi \tan \alpha} = \frac{0,77 \text{ nm}}{2\pi \tan 25^\circ} = \underline{0,26 \text{ nm}}$$

Alternativ metode for beregning av radien: Baserer seg på at første maksimum for Besselfunksjonen $|J_n(\chi)|$ finner vi ved $\chi \approx n + 2$. Nå er "helikskrysset" tegnet opp med lineær økning av første maksimum, slik at dette ikke er tatt helt til følge, så vi må istedet bruke at $|J_1(\chi)|$ har første maksimum ved $\chi \approx 1$. Nå er $\chi = 2\pi R r_0$, og den resiproke avstanden R kan beregnes fra den utmålte avstanden $s_R = 6 \text{ nm}$ ut til første maks. på første sjiktlinje. Vi beregner som for P og p over: $R = \frac{1}{\lambda} \cdot \frac{s_R}{P} = 10 \text{ nm}^{-1} \cdot \frac{6}{100} = 0,60 \text{ nm}^{-1}$. Dette gir $r_0 = \frac{1}{2\pi R} = \underline{0,27 \text{ nm}}$. (bra overensstemmelse med så grov tilnærming)

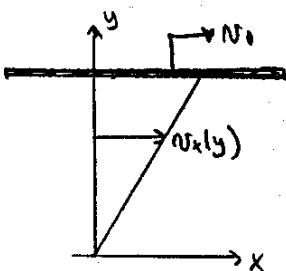
Oppgave 4a.

(Kap. 6.1.5) I et statistisk kjedemolekyl har en segmentvektor fullstendig fri orientering i forhold til nabosegmentet. For et kjede hvor dette ikke er tilfellet, kan vi bevege oss en lengde Q_e langs kjeden inntil dette er oppfylt. Denne lengden Q_e kalles Kuhn-lengden. På denne skalen er molekylet å betrakte som en statistisk kjede med segmentlengde Q_e og N_e (Kuhn-) segmenter. Dersom kjedemolekylet har konturlengde L_C vil N_e være gitt ved $L_C = N_e \cdot Q_e$.

Videre gjelder for statistisk kjedemolekyler (oppgitt formel): $\langle r_{e-e}^2 \rangle = (N-1)Q^2$, der $(N-1)$ er antall statistiske segmentvektorer. Med $(N-1) = N_e$ får vi dermed $\langle r_{e-e}^2 \rangle = N_e Q_e^2$. Fra denne og $L_C = N_e \cdot Q_e$ finner vi

$$\frac{\langle r_{e-e}^2 \rangle}{L_C^2} = \frac{N_e Q_e^2}{N_e^2 Q_e^2} = \frac{1}{N_e} \Rightarrow N_e = \frac{L_C^2}{\langle r_{e-e}^2 \rangle} \quad \text{og dermed} \quad Q_e = \frac{L_C}{N_e} = \frac{\langle r_{e-e}^2 \rangle}{L_C}$$

Oppgave 4b.



(Kap. 7.3, Fig. 7.7) Enkel skjærstrømning: Skjærflatene er plane. Med skjærplanet $\perp y$ -aksen er væskestrømmen i x -retning, hastighetsgradienten i y -retning og ingen z -avhengighet, dvs. $v = v_x(y)$. Skjærraten $\dot{\gamma}$ ($\gamma =$ skjær) er definert som symmetrisert hastighetsgradient, generelt som en tensor:

$$\dot{\gamma}_{ij} = \frac{\partial v_i}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j}{\partial x_i}, \quad \left(\vec{\gamma} = \vec{\nabla} \vec{v} + (\vec{\nabla} \vec{v})^T \right),$$

der $i, j = 1, 2, 3$ representerer de tre koordinatretningene x, y og z . Med $v = v_x(y)$ forenkles skjærraten til:

$$\dot{\gamma}_{12} = \dot{\gamma}_{21} = \frac{\partial v_x}{\partial y} + 0 \Rightarrow \dot{\gamma} = \frac{\partial v_x}{\partial y}$$

mens alle andre komponenter er lik null.

Ved kraftig skjær vil lange molekyler rette seg inn langs flytretningen, og løsningen vil vise betydelig mindre motstand mot strømning enn om molekylene ikke var innrettet (spaghet-tieffekten). Man måler derfor en betydelig lavere viskositet enn hva molekylene i sin native konformasjon ville vise. (Merk at egenviskositeten er definert ved $\dot{\gamma} \rightarrow 0$.) Dette er et problem bl.a. med kapillarviskosimeter, og effekten er demonstrert for DNA i kompendiet (Fig. 7.11).

Oppgave 4c.

(Kap. 3.2.4) Manning har, ved å bruke konvergenskrav for partisjonsfunksjonen til elek-

trostatisk energi rundt et sylinderformet, ladd molekyl, funnet at tetteste avstand mellom enkeltladninger er

$$b_{\text{kritisk}} = e^2 / (4\pi\epsilon k_B T) = \begin{cases} 0,714 \text{ nm} & \text{ved } 25^\circ\text{C} \text{ (oppgitt)} \\ 0,686 \text{ nm} & \text{ved } 37^\circ\text{C}. \end{cases}$$

når motionene i løsningen er monovalente. (Oppgitt 0,714 nm basert på $\epsilon = 78,5 \cdot \epsilon_0$. Antar samme verdi ved 37°C.) Fysisk sett forklarer han dette med at motioner fra løsningen kondenserer på molekylet og nøytraliserer ladningene inntil avstanden mellom ladningene er b_{kritisk} eller mer. I stedet for totalladning $\frac{l}{b} \cdot e = \frac{42 \text{ nm}}{0,17 \text{ nm}} \cdot e = 247 \cdot e$ vil derfor molekylets nettoladning bli (pluss evt. en ladning på enden)

$$\frac{l}{b_{\text{kritisk}}} \cdot (-e) = -\frac{42 \text{ nm}}{0,686 \text{ nm}} \cdot e = -61 \cdot e = -9,8 \cdot 10^{-18} \text{ C}.$$

Oppgave 4d.

(Lab 7, Kap. 9.3.) τ = relaksasjonstiden (decaytiden), D_R = rotasjonsdiffusjonskoeffisienten. Polydisperse løsninger har molekyler med mange ulike lengder, og dermed mange ulike D_R . For polydisperse løsninger vil derfor dobbeltbrytningen være sammensatt av mange decaytider:

$$\Delta n(t) = \sum a_i \cdot \exp\{-t/\tau_i\}.$$

Lange molekyler har betydelig større τ_i , jfr. Fig. 9.3 i kompendiet som viser F'_R , som er prop. med $1/D_R = 6\tau_i$.

Når eksitasjonspulsen er kort i forhold til τ_i for et molekyl vil molekylet ikke rekke å innrette seg noe videre. Det betyr at dobbeltbrytningssignalet blir svakt fra dette molekylet. Dette betyr at kun korte molekyler med liten τ_i vil bidra ved relaksasjonen. Når eksitasjonspulsen øker i lengde vil også lengre molekyler få tid å rette seg inn, og de bidrar også til relaksasjonen. Det medfører at den midlere decaytid for relaksasjonen øker med økende eksitasjonspulslengde for en og samme løsning. Hvis pulslengden blir lengre enn decaytiden for det lengste molekylet vil alle molekyler være innrettet, og midlere decaytid er uavhengig av videre økning.

Oppgave 4e.

(Kap. 11.4, Lab 8) Kromoforer har lange lineære eller sykliske konjugerte bindinger som absorberer lys i det synlige området (chroma = farge). Slike bindingers energinivåer kan tilnærmes med energinivåer til partikkel i boks, som oppgitt likning (= (11.76) i kompendiet):

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

Her er n kvantetallet, b midlere bindingslengde og $N = 1 + \text{antall bindinger}$. Elektronene kan eksiteres til høyere energinivå n ved å absorbere elektromagnetisk stråling, og vi kan regne ut fra $E_{n+1} - E_n$ at energidifferansen og dermed absorbert fotonenergi $\hbar\omega$ ligger i synlig-lys-området for mange organiske sykliske forbindelser. Vi ser av likningen at jo lengre bindingslengden b og antall bindinger N er i molekylet (og dermed større molekyl), jo lavere energidifferanse, dvs. høyere λ (mot rødt). Eksempler på kromoforer: Hemoglobin, klorofyll, α -karoten.

Oppgave 4f.

(CD: Kap. 11.6; ORD: Kap 13.1) CD: Ulik absorpsjonsevne for høyredreie og venstredreie polarisert lys. Angis ved (Fig.11.28) elliptisiteten Θ i ellipsen som oppstår når lineært polarisert lys sendes inn (men ved målingene sendes sirkulært polarisert lys inn).

ORD: Ulik fasefart for høyredreie og venstredreie polarisert lys. Angis ved (Fig.13.1) dreievinkelen Φ , dvs. dreining av polarisasjonsplanet når lineært polarisert lys sendes inn.

Begge målemetoder gir opplysning om "optisk aktive" strukturer, spesielt andel av α -heliks, β -sheet. Målingene skjer i UV-området 180-250 nm. CD og ORD er relatert ved Kramers-Kronigs relasjoner.