

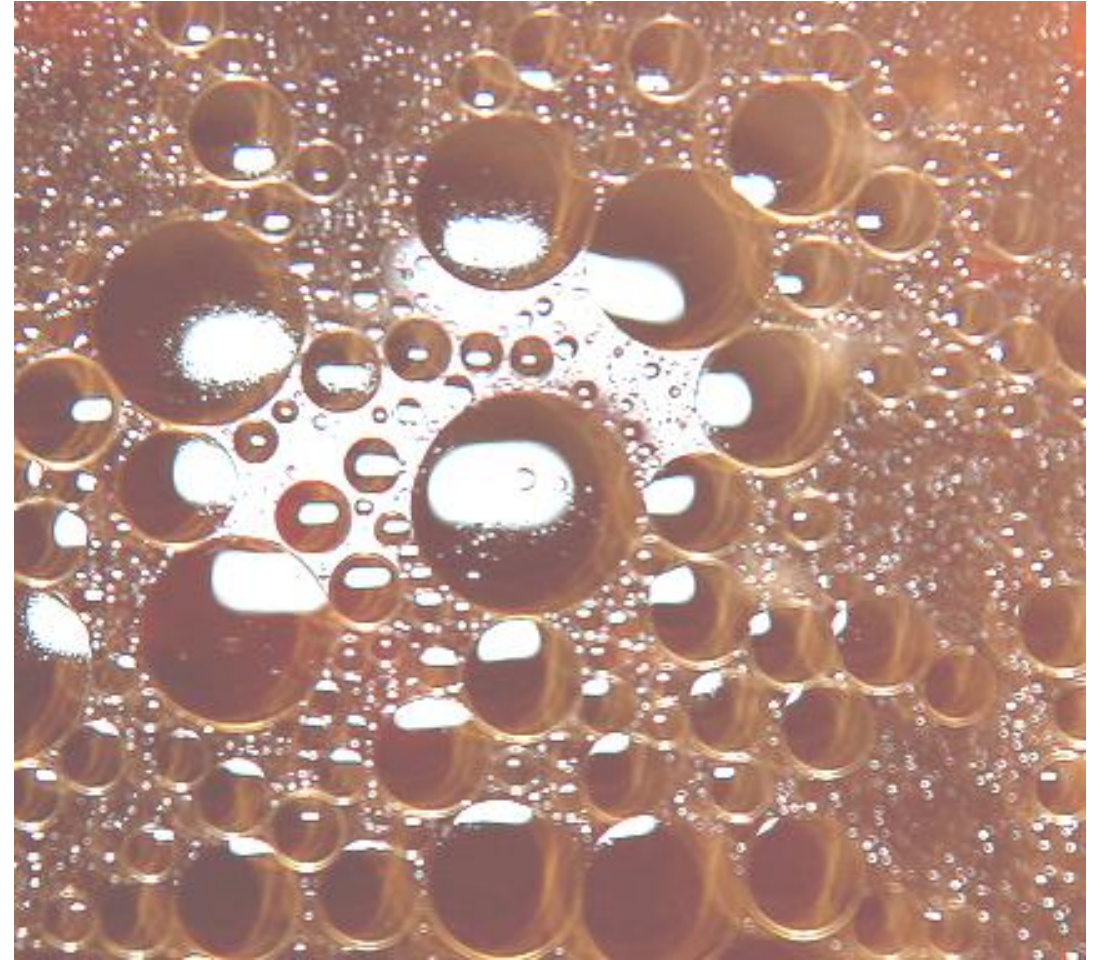
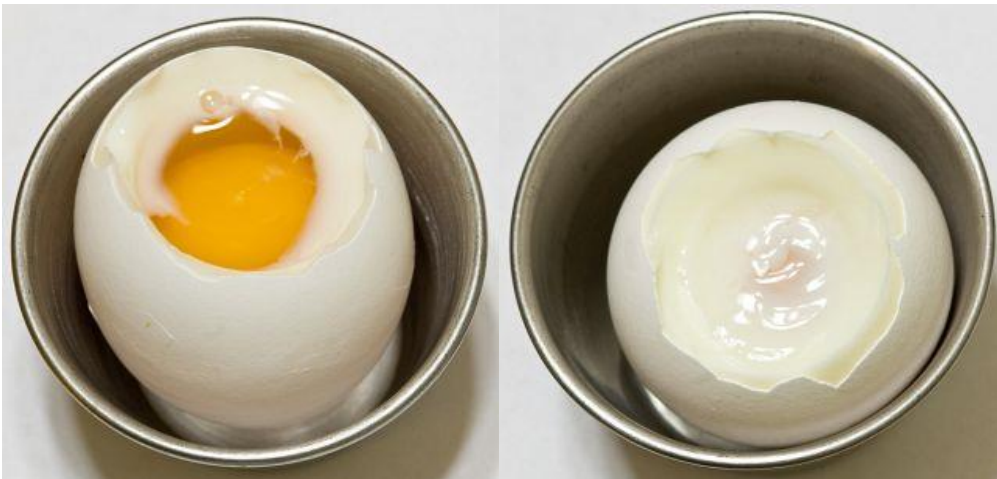


Termodinamika na molekularni ravni

Kaj se dogaja z molekulami med kuhanjem?

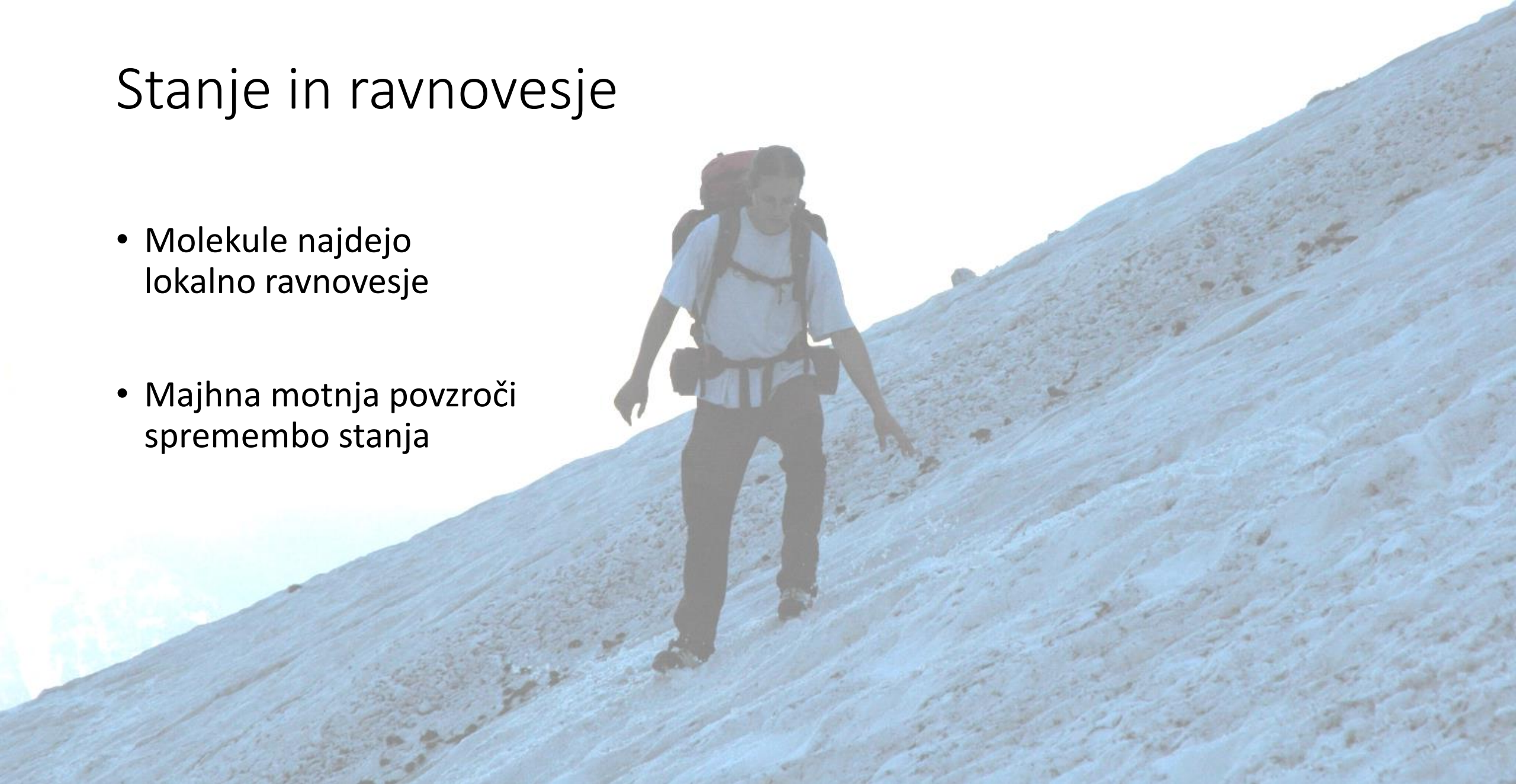
Ko dovajamo energijo,
dvigujemo temperaturo in
posledično spreminjamo

- strukture molekul
- porazdelitev molekul

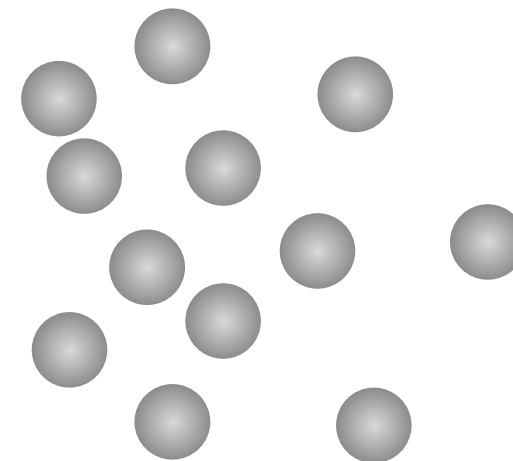
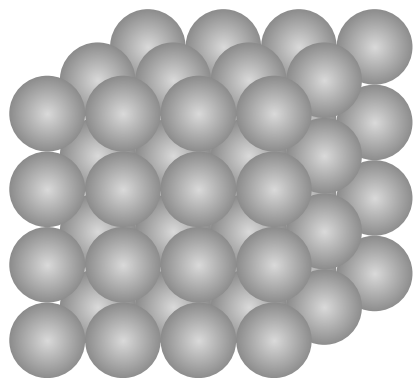


Stanje in ravnovesje

- Molekule najdejo lokalno ravnovesje
- Majhna motnja povzroči spremembo stanja



V čem se razlikujejo stanja?



↑ entropija

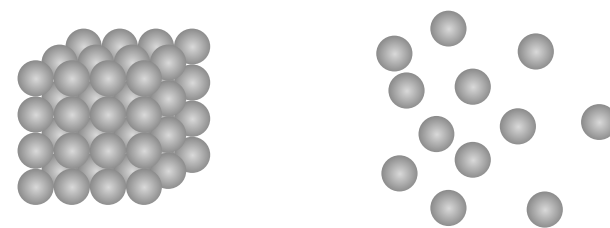
↓ energija

Kam se razvijajo stanja?

- Določa **prosta energija** (G):
(pri stalnem tlaku in temperaturi $\Delta H = \Delta E$)

$$G = E - TS$$

$$G = E - k_B T \ln(P)$$



- Procesi spontano potekajo
v smeri nižje proste energije:

$$\Delta G < 0$$

$$\Delta E - T\Delta S < 0$$



- V ravnovesju je prosta energija sistema najnižja.

G ... prosta entalpija (angl. *Gibbs free energy*)

H ... entalpija ($H = E + pV$)

E ... energija

T ... absolutna temperatura

S ... entropija

P ... število stanj sistema

k_B ... Boltzmannova konstanta

($1,38 \times 10^{-23}$ J/K = $8,6 \times 10^{-5}$ eV/K)

Vse količine (E, G, S) na delec (ne na mol)!

Tudi v ravnovesju ni vse homogeno

- Molekule so lahko v različnih stanjih z enako prosto energijo:

$$\begin{aligned} G_1 &= G_2 \\ E_1 - TS_1 &= E_2 - TS_2 \end{aligned}$$

- Porazdelitev verjetnosti stanj p_i (*Boltzmannov faktor*):

$$p_i \propto e^{-E_i/kT}$$

- Razmerje verjetnosti:

$$\frac{p_1}{p_2} = e^{-\Delta E/kT}$$

Življenjski čas molekularnih struktur

- Razmerje verjetnosti stanj = razmerje življenjskih časov (τ):

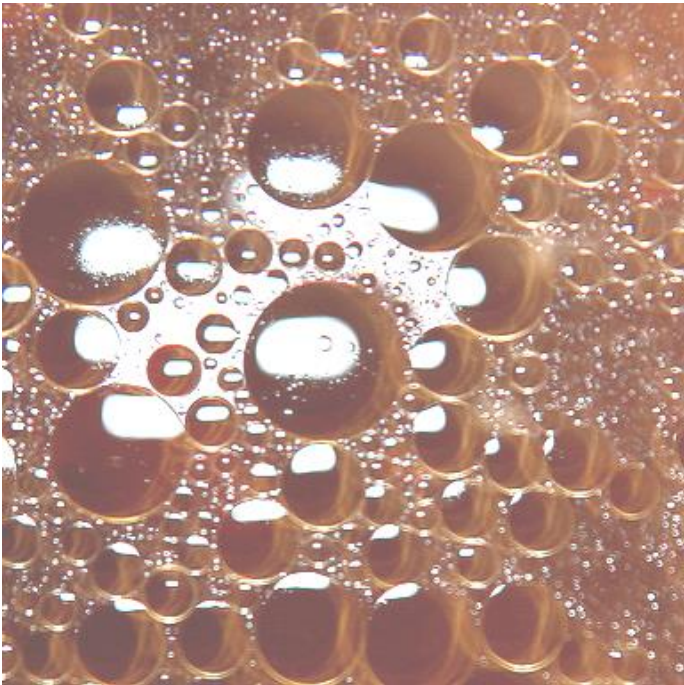
$\downarrow E \dots \uparrow \tau$

$$\frac{p_1}{p_2} = \frac{\tau_1}{\tau_2} = e^{-\Delta E/kT}$$

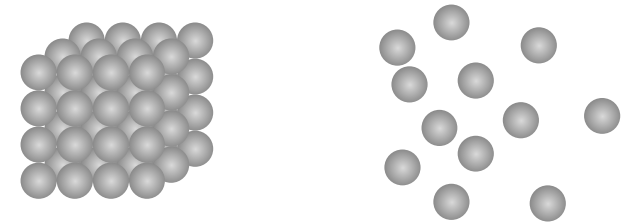
- V: Primerjaj življenjske čase naslednjih struktur:
 - H- in kovalentna vez
 - Enega, dveh, treh zavojev α -vijačnice proteinov
- Vsaka dodatna H-vez (0,1 eV) podaljša življenjski čas strukture za ~55x!

Temperatura spreminja porazdelitev stanj

izločanje maščobe iz
juhe pri ohlajanju

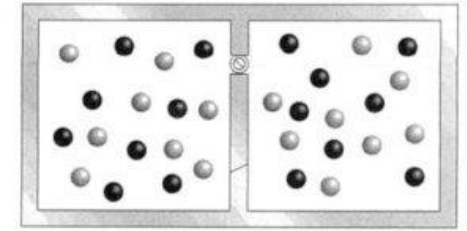
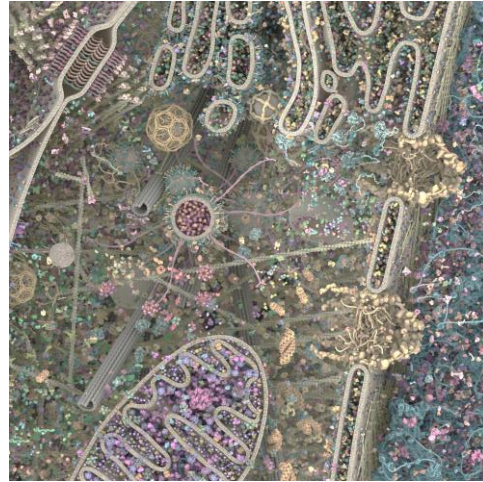
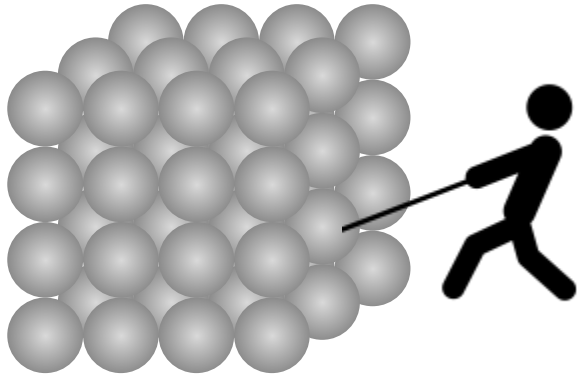


raztapljanje sladkorja pri
kuhanju marmelade

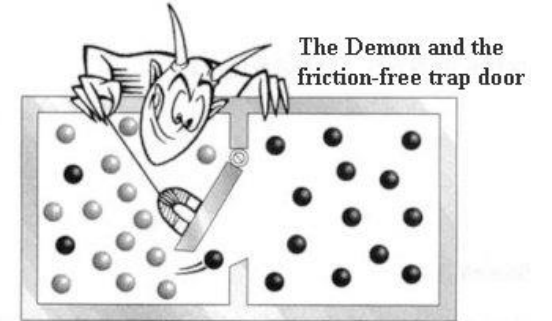


$$\frac{p_1}{p_2} = \frac{\tau_1}{\tau_2} = e^{-\Delta E/kT}$$

Stacionarno stanje NI nujno tudi ravnovesje



System at Equilibrium

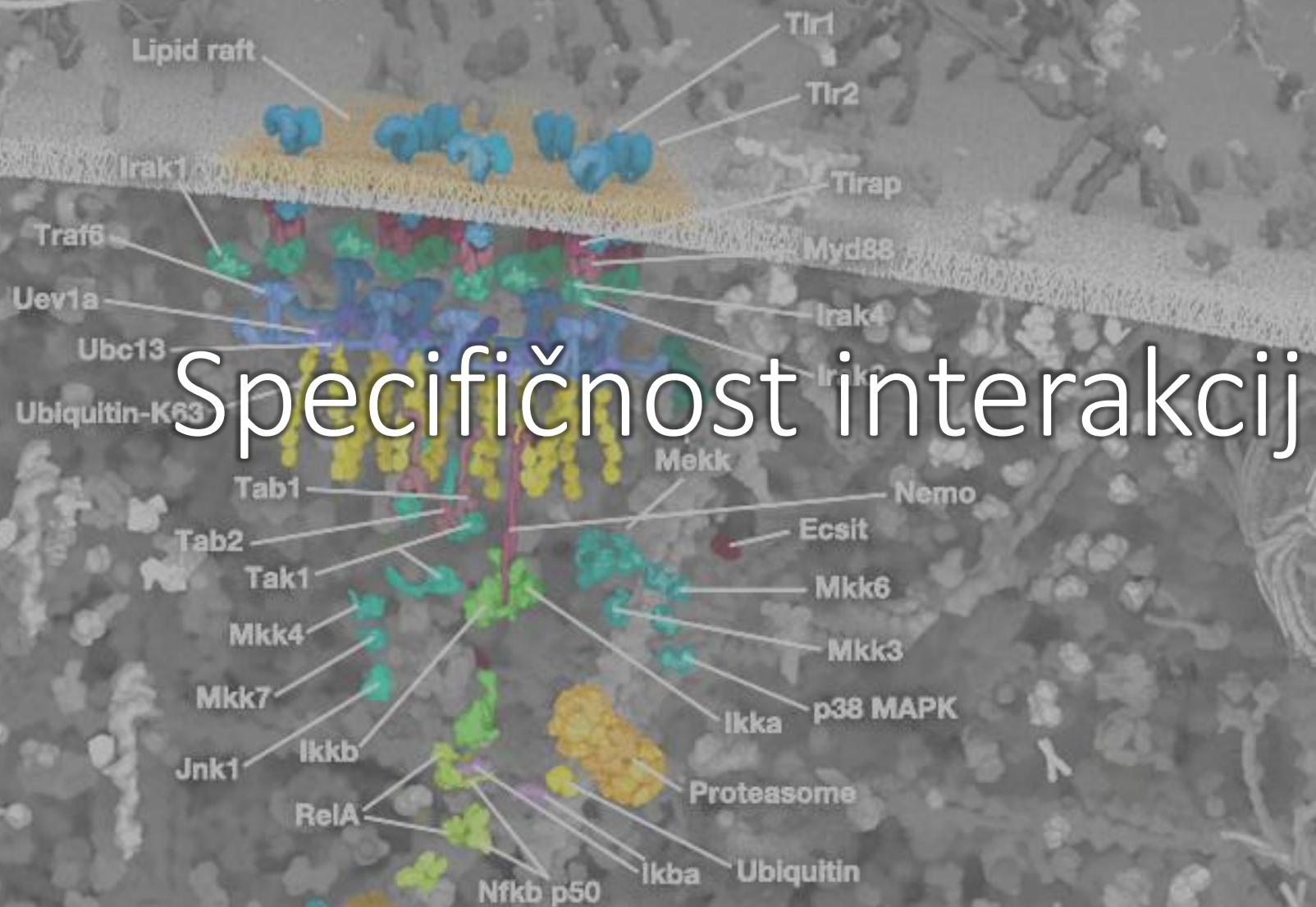


System with Lower Entropy
(in violation of the Second Law)

↓ energija

↑ entropija

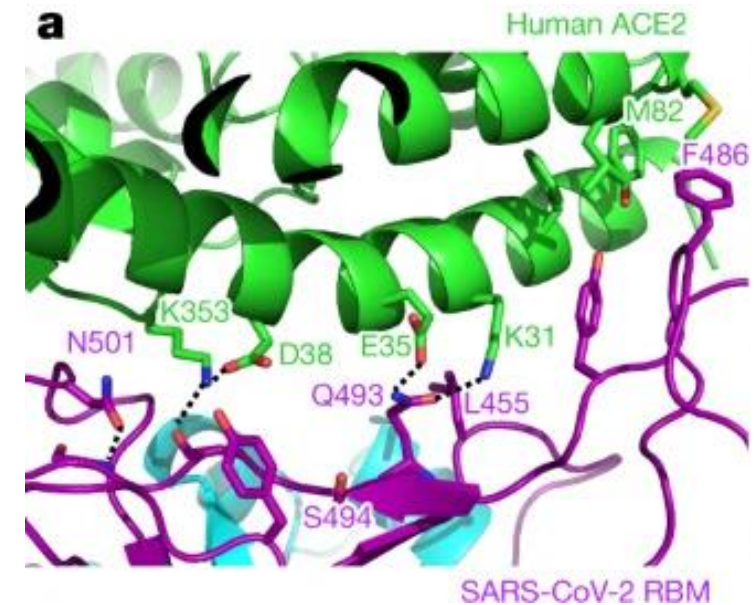
Vzdrževanje ravno pravega (ne)reda zahteva tok snovi in zato energijo



Kako se molekule “prepoznajo”?

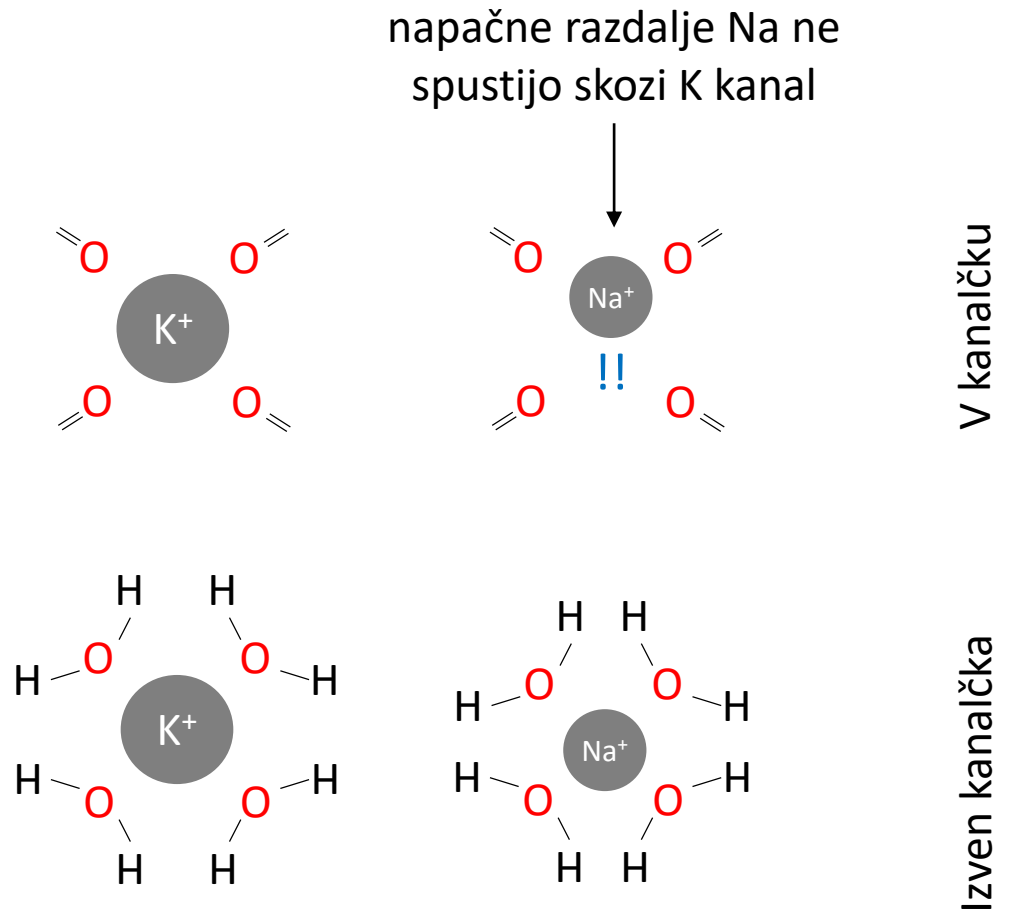
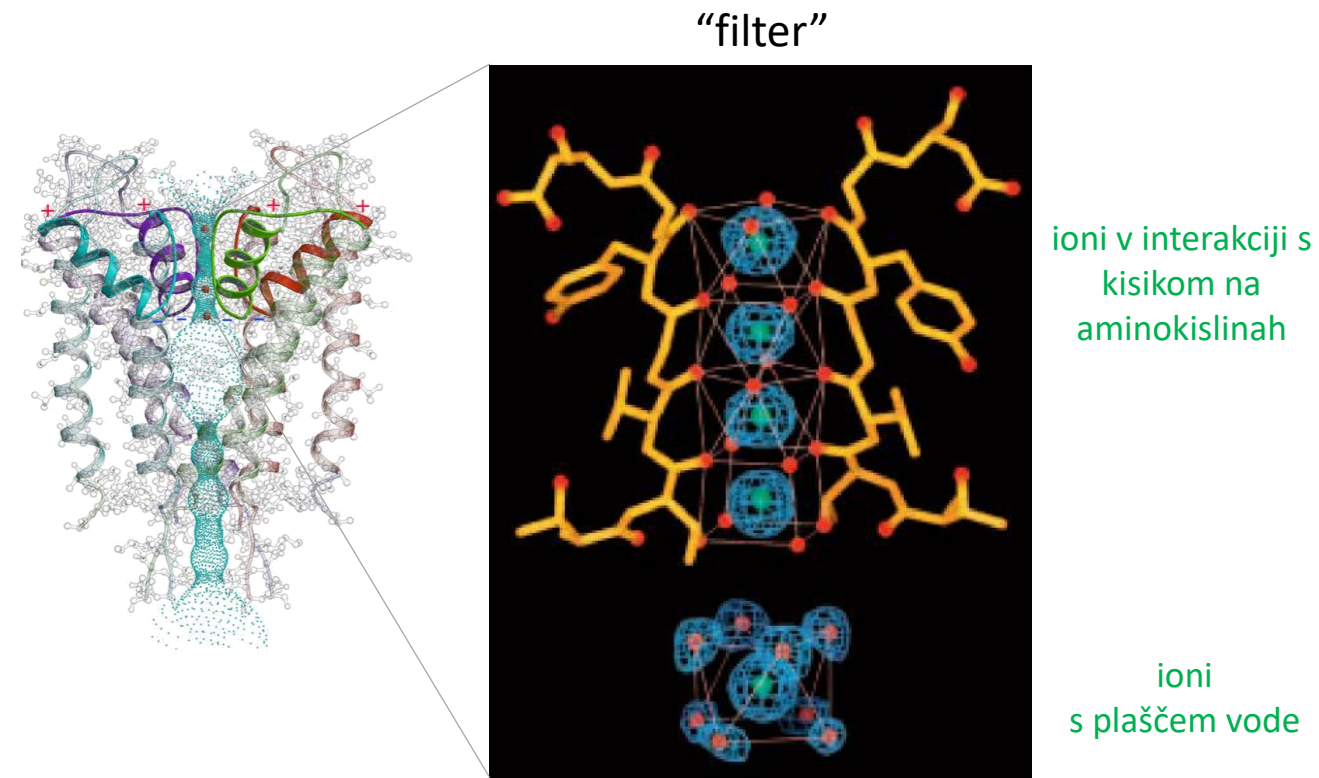
- Primeri:

- Receptor–ligand
- Encim–substrat
- Protitelo–antigen
- Transkripcijski faktor–DNA
- Ionski kanali
- Bazni pari DNA
- ...



- Konformacije interakcijskih motivov na pravem mestu in v pravi smeri
- Število šibkih vezi določa vezavni čas preko mnogo velikostnih redov (ps–Ms).

Specifičnost ionskega kanala



V: Ali lahko z energijo interakcij razložimo, zakaj Na ne more skozi K kanal?

Vpogled v reakcije in vezave molekul ter metode za merjenje interakcij

Na porazdelitev stanj poleg energije vpliva tudi entropija

- Verjetnost za zasedenost stanja je odvisna od energije stanja (Boltzmannov faktor):

$$p_i \propto e^{-E_i/kT}$$

- Kadar se molekularna stanja močno razlikujejo, je pri oceni njihove verjetnosti (p_i) potrebno upoštevati tudi razliko v entropiji: (tj. različno število možnih izvedb istega stanja - P_i)

$$p_i \propto P_i e^{-E_i/kT} = e^{-E_i/kT + \ln P_i}$$

$$p_i \propto e^{-G_i/kT}$$

Dinamika kemijskih reakcij

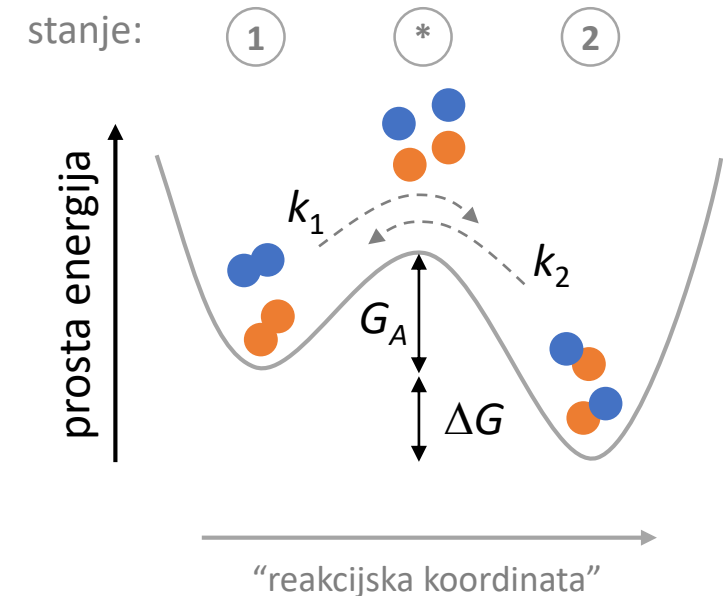
- Hitrost reakcije (spreminjanje koncentracij) je odvisna od verjetnosti vmesnega stanja:
 - koncentracije snovi v izhodiščnem stanju (c_i) ter
 - neugodnosti vmesnega stanja * (aktivacijska energija, G_A):

$$\frac{dc_2}{dt} = k_1 c_1 - k_2 c_2 \quad \begin{aligned} k_1 &= A e^{-(G_A - G_1)/kT} \\ k_2 &= A e^{-(G_A - G_2)/kT} \end{aligned}$$

- Razmerje koncentracij snovi v ravnovesju ($dc/dt = 0$), ki jih opisuje *ravnotežna konstanta reakcije* (K), določa razlika proste energije med stanjema ($\Delta G = G_2 - G_1$):

$$\frac{c_2}{c_1} = \frac{k_1}{k_2} = K = e^{-\Delta G/kT}$$

- Reakcija teče spontano ($K > 1$), če imajo produkti nižjo prosto energijo od reaktantov ($\Delta G < 0$).



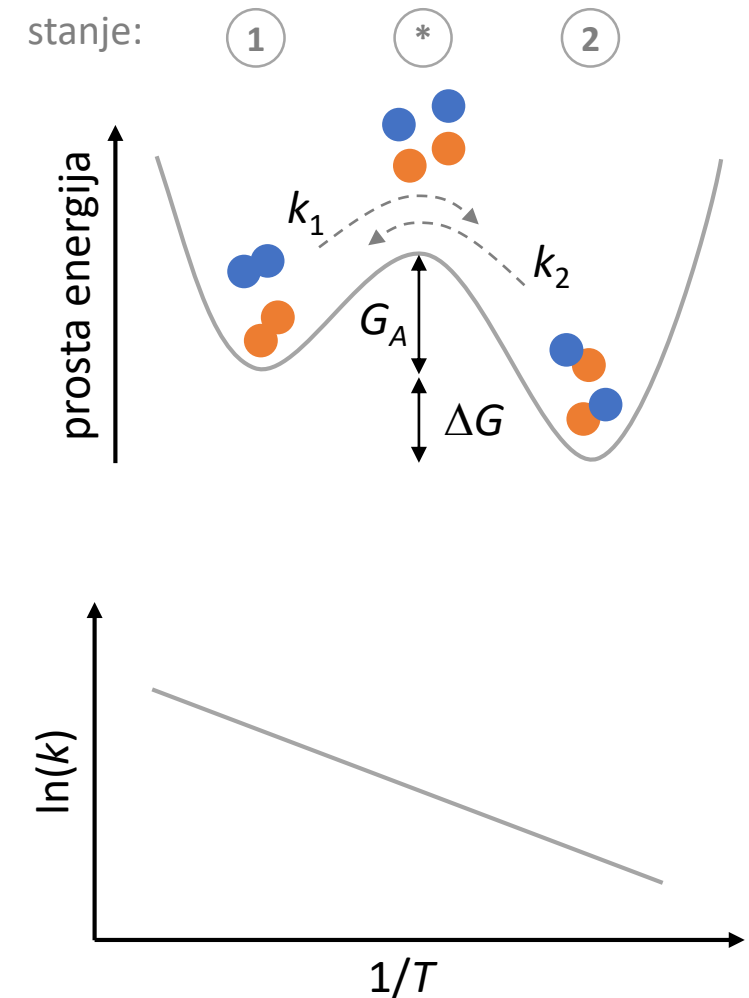
Dinamika kemijskih reakcij

- Katalizatorji (encimi) pospešijo reakcijo (znižajo E_A), ne spremenijo pa ravnovesnih koncentracij!
- Aktivacijsko energijo lahko določimo iz temperaturne odvisnosti hitrosti reakcije (Arrheniusova relacija):

$$k_1 = A e^{-G_A/kT}$$

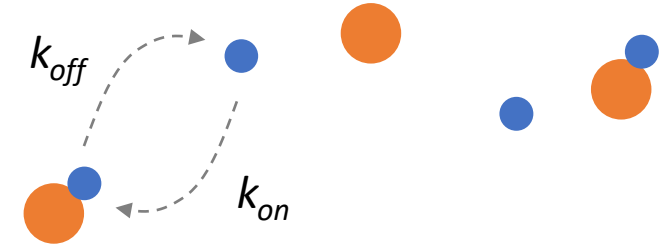
$$\ln(k_1) = \ln(A) - \frac{G_A}{k} \frac{1}{T}$$

- Tudi pri kompleksnih bioloških kaskadah reakcij celokupno hitrost navadno določa ena od stopenj (*“rate-limiting step”*).



Dinamika vezave med molekulami

- Tudi pri vezavi liganda na receptor $A + B \leftrightarrow AB$ gre za dinamično ravnovesje med reakcijama vezave (k_{on}) in odcepljanja (k_{off}). Nekaj liganda vedno ostane prostega.

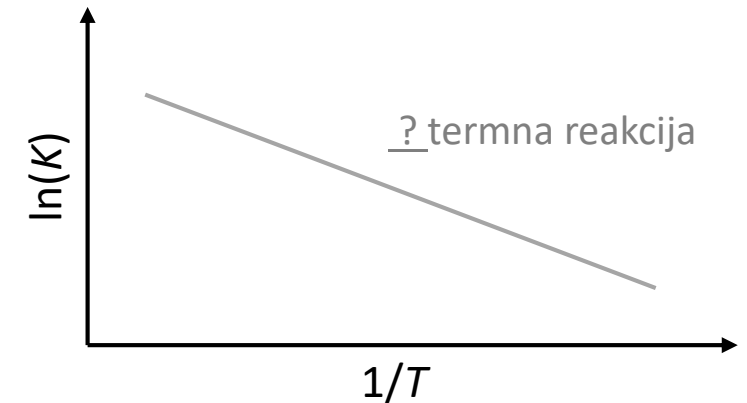


- Ravnovesne koncentracije ponovno določa razlika v prosti energiji med vezanim in nevezanim ligandom:
- Jakost vezave namesto s K pogosto izrazimo z *disociacijsko konstanto* $K_d = 1/K$, ki ima enoto c . Pri $c_A = K_d$ bo zasedena polovica vezavnih mest.

$$\frac{c_{AB}}{c_A c_B} = \frac{k_{on}}{k_{off}} = K = e^{-\Delta G/kT}$$

Ali spremembe vodi energija ali entropija?

- Prosto energijo lahko zniža
 - znižanje energije (tvorba novih vezi)
 - eksotermna reakcija
 - povišanje entropije (možnost novih konfiguracij)
 - endotermna reakcija
- Prispevka energije in entropije lahko določimo
 - preko temperaturne odvisnosti ravnotežne konstante (Arrheniusova relacija):
 - z merjenjem sproščene/absorbirane toplote (kalorimetrija)



$$\ln(K) = -\frac{\Delta G}{k} \frac{1}{T} = \frac{\Delta S}{k} - \frac{\Delta E}{k} \frac{1}{T}$$

Kalorimetrija

- Energijska vrednost hrane, **kalorija**
- V bioloških sistemih nas pri **kalorimetriji** zanima količina energije (**TOPLOTE**), ki se sprosti ali porabi pri nastanku ali razdiranju vezi, npr. pri
 - razvijanju ali denaturaciji proteinov
 - faznih prehodih v lipidnih membranah
 - interakcijah encim/inhibitor, antigen/protitelo
- Toplota je povezana z entalpijo in entropijo:
(pri kalorimetriji je specifična toplota izražena na mol, ne kg!)

100g izdelka vsebuje povprečno:		
energijska vrednost kJ/kcal	301/71	
beljakovine	2,9 g	
ogljikovi hidrati	12,4 g	
od teh sladkorj	11 g	
maščoba	1,1 g	

H₂O: $c_p = 4180 \text{ J/kgK} = 4.18 \text{ kJ/kg K} = 1 \text{ kcal/kg K}$

tipična potreba po energiji za odraslega človeka
→ cca. **2500 kcal/dan** = **10000 kJ/dan**

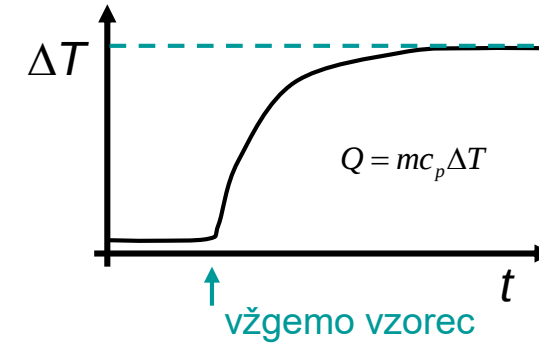
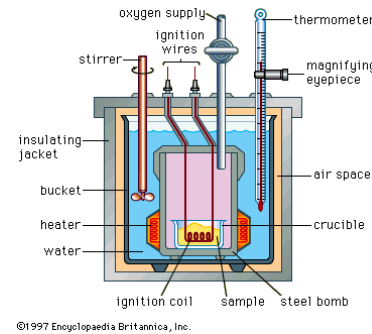
$$Q = mc_p \Delta T$$

$$dH = c_p dT, \quad dS = \frac{c_p}{T} dT$$

Q ... toplota
 m ... masa
 c_p ... specifična toplota
 T ... temperatura

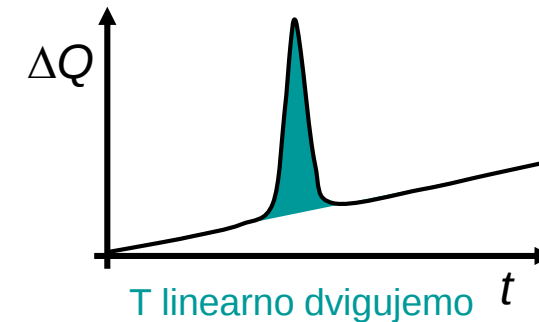
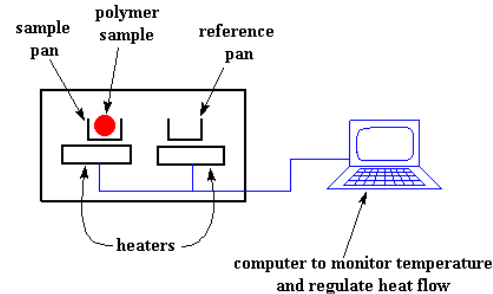
Kalorimetrija – tri izvedbe

- **Adiabatna kalorimetrija**
(meri toploto zgorevanja)

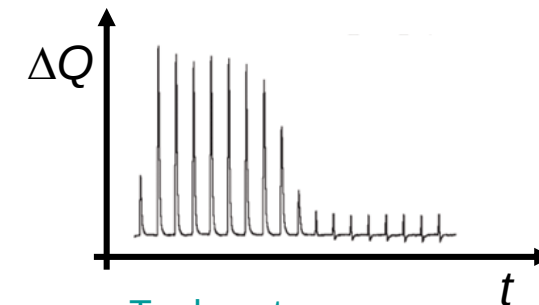
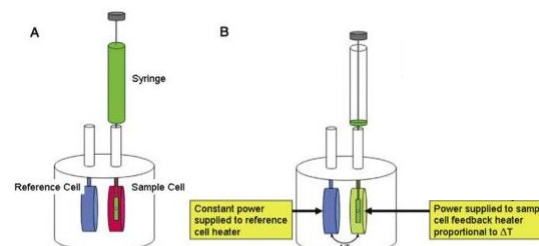


V bioloških sistemih:

- **Diferencialna dinamična kalorimetrija**
(spremljamo podiranje vezi v molekuli, fazne prehode)



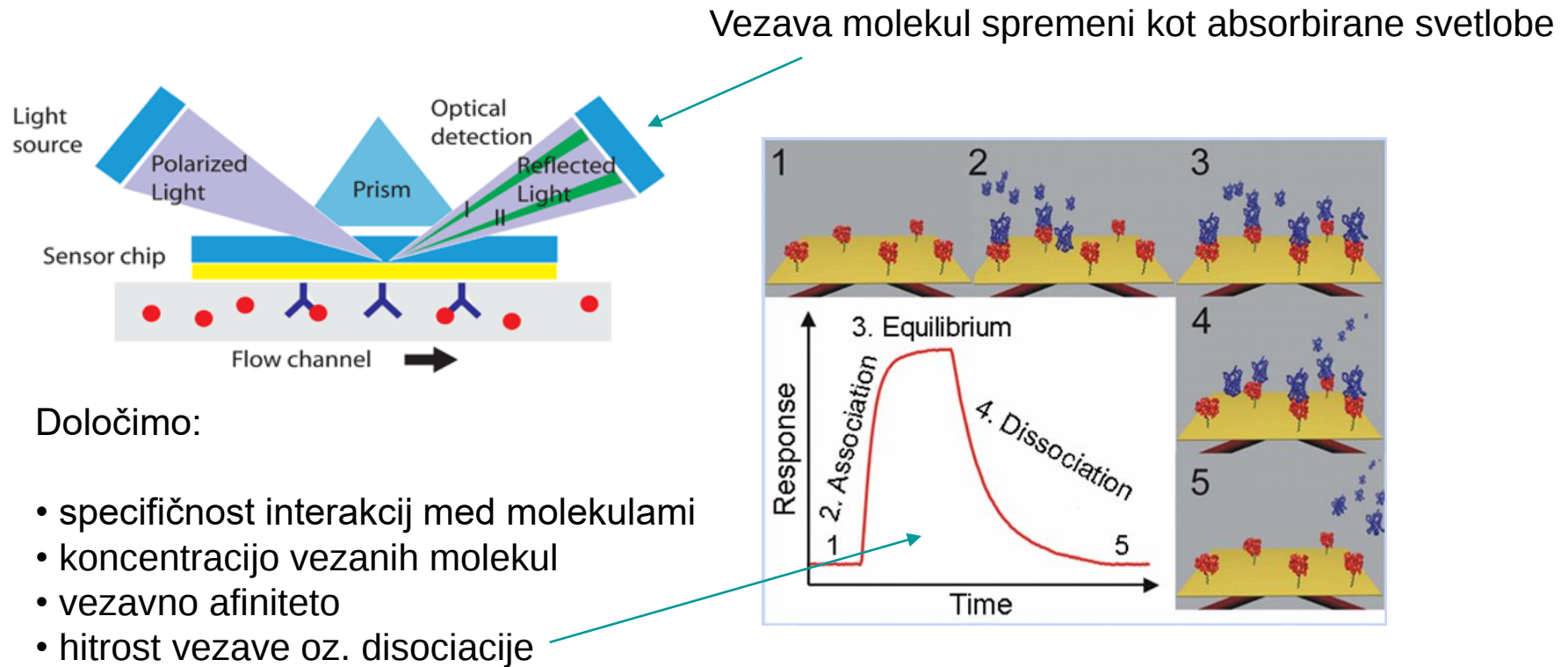
- **Izotermna titracijska kalorimetrija**
(spremljamo vezavo med molekulami)



Površinska plazmonska resonanca (SPR)

ko zastavice zatemnijo nebo

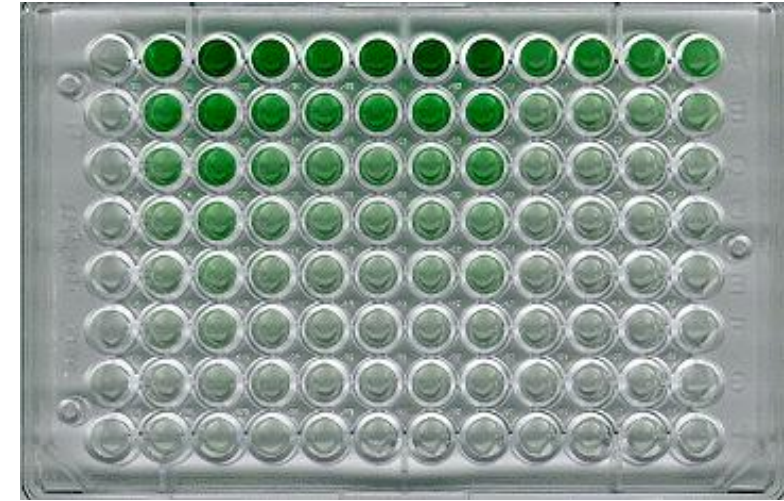
- Ko spremenimo opazovano tekočino, spremenimo lastnosti odbite svetlobe !



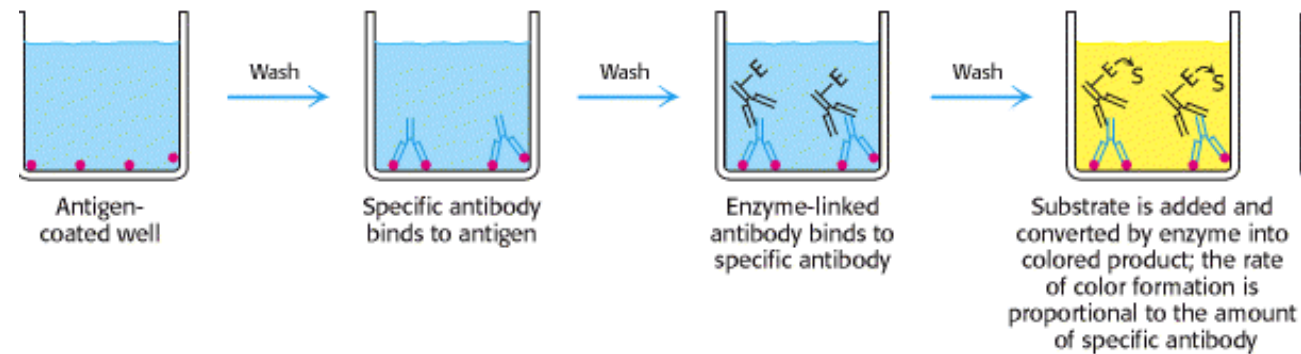
Encimskoimunski test

z molekularnim ojačevalcem vidimo bolje

- Že vezava enega samega encima preko antigena ali protitelesa pretvori mnogo molekul substrata v molekule drugačne barve!



(A) Indirect ELISA



(B) Sandwich ELISA

