

Válasz Dr. Derényi Imre opponensi véleményére, amelyet “Sejt- és lipid membrán struktúrák. Az elektromos-, termális- és kémiai kölcsönhatások szerepe.” című MTA doktori értekezésemre adott.

New York, 2012. március 12.

Dr. Sugár István

1. Az első fejezet eredményei még a '80-as évek végen születtek. Mennyiben elfogadott az elektroporációra felállított modell napjainkban is? Születtek-e azóta más magyarázatok a jelenségre?

Válasz az 1. kérdésre

Az elektroporáció elméleti kutatásának mai helyzetéről Chen és munkatársai írtak egy kiváló összefoglalót (C. Chen et al., Membrane electroporation theories: a review. Med. Biol. Eng. Comput. 2006, 44:5-14). Eszerint a korai modellek két fajtája ismeretes: 1) determinisztikus modellek, amelyek nem vezetnek pórus képződéshez, és 2) a pórus képződés sztohasztikus modelljei. Az első típusú modellek nem képesek értelmezni a kísérleti tapasztalatokat: nevezetesen, hogy a BLM (black lipid membrane) élettartama széles valószínűségeloszlást követ és, hogy egy kritikus transzmembrán feszültség fölött a BLM elpattanás valószínűsége különösen nagy lesz. A második típusú modellek, ide tartozik az értekezésben ismertett modell, képesek a kísérleti eredmények lényegét visszaadni, ezért ezek a modellek a mai napig széles körben elfogadottak. Az összefoglaló két új, lényeges, elméleti eredményt említ. Először is, 2003-ban T.J. Lewis (A model for bilayer membrane electroporation based on resultant electromechanical stress. IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul. 2003, 10:769-777) egy új, fontos aspektusát vetette fel az elektroporációnak. Rámutatott arra, hogy az elektromos tér a membrán minden pontjában laterális erőket eredményez, amelyek a membránt összetartó erőkkel szemben dolgoznak és pórus keletkezéshez vezethetnek elegendően erős tér esetén. A másik alapvetően fontos csoportja az új elméleti eredményeknek, az elektroporáció molekuláris dinamikai szimulációiból születnek. A szimulációk atomi szinten mutatják az elektroporáció dinamikáját. A szimulációk visszaadják a kísérleti eredmények jelentős részét, ami az atomi szintű szimulációk

megbízhatóságát támasztja alá. A szimulációk legfontosabb eredményei (R.A. Bockmann et al., Kinetics, statistics, and energetics of lipid membrane electroporation studied by molecular dynamics simulations. Biophys. J. 2008, 95:1837-1850; M. Tarek, Membrane electroporation. Biophys. J., 2005, 88:4045-4053):

- a) Egy kritikus transzmembrán térerő (0.36-0.7V/nm) felett topologialag kör alakú pórusok keletkeznek a membránban. A pórusok néhány nanoszekundum alatt kialakulnak
- b) A pórus kialakulás lépései: Először, a membrán mindkét rétegében lévő, poláris fejcsoportok kissé elfordulnak. Ezután előpórusok formálódnak, amelyek 3-4 lipid fejcsoportot és számos vízmolekulát tartalmaznak. Végül kialakulnak a pórusok, amelyek falát poláris fejcsoportok borítják.
- c) A pórus kialakulás során lipid molekulák szabadulnak ki a lipid matrixból az extra- és intra celluláris térbe.
- d) A tér megszűntével a pórus bezáródás ugyanolyan gyors mint a kinyílás. A mérések szerint azonban ez a folyamat sokkal lassúbb (1-100s) mint a pórus kinyílás (Weaver J.C., Chizmadzhev Y.A. Theory of electroporation: a review. Bioelectrochem. Bioenerg. 1996, 41:135-160).

2. A 9. oldalon a pórus szabadenergiájában a lipidek kémiai potenciálkülönbsége szerepel az oldat és a membrán között. Ez arra utal, mintha a pórusok keletkezésekor a lipidek a membránból az oldatba jutnának. Ez szerintem alapvetően hibás kép. Az oldat és a membrán közötti lipidcsere irreleváns a pórusképződés időskáláján. (A kémiai potenciál ráadásul mínusz végtelenhez tartana az oldat hígítása során.) Nem inkább a membrán mechanikai feszültségét kellene itt figyelembe venni? Ez esetben viszont $\Delta g = \sigma$, amely nem lehet negatív, és érvénytelenné tenné a „stabil” membránokkal kapcsolatos eredményeket.

Válasz a 2. kérdésre

A 9. oldalon a 6. egyenlet Kashchiev-től származik (Kashchiev D. On the stability of membrane, foam and emulsion bilayers with respect to rupture by hole nucleation. Colloid & Polymer Science 1987, 265:436-441).

Az elmélet kísérleti alapja a következő megfigyelés volt: amikor a membrán (Newtonian black film) oldattal volt kapcsolatban a membrán élettartama

csökkent az oldatban lévő lipid molekulák koncentrációjának csökkenésével. Nagyon alacsony koncentrációk esetén (azaz amikor a lipid oldatbeli kémiai potenciálja minusz végtelenhez tart) a membrán olyan gyorsan elpattan, hogy átlagos élettartamát nem lehetett meghatározni. A membrán élettartama azonban gyorsan növekedett az oldatbeli lipidkoncentráció növekedésével és végtelenhez tartott az egyensúlyi koncentrációnál, C_e . A kísérleti eredmények a cikk első hat referenciájában találhatók.

A membrán elpattanás elméletét Kaschiev a szilárd felületen adszorbeált egyrétegű oldat elpárolgását leíró nukleációs elmélet analógiájára dolgozta ki. Az elmélet valóban feltételezi, hogy a pórus keletkezéskor a membránt alkotó lipid molekulák az oldatba jutnak, és ez az elmélet a kísérletekkel egyező eredményt produkál. Kimutatja, hogy a membrán pórus képződésre nézve stabil vagy instabil attól függően, hogy az oldatbeli lipid koncentráció nagyobb vagy kisebb mint C_e , azaz $\Delta g \leq 0$ N/m vagy $\Delta g > 0$ N/m.

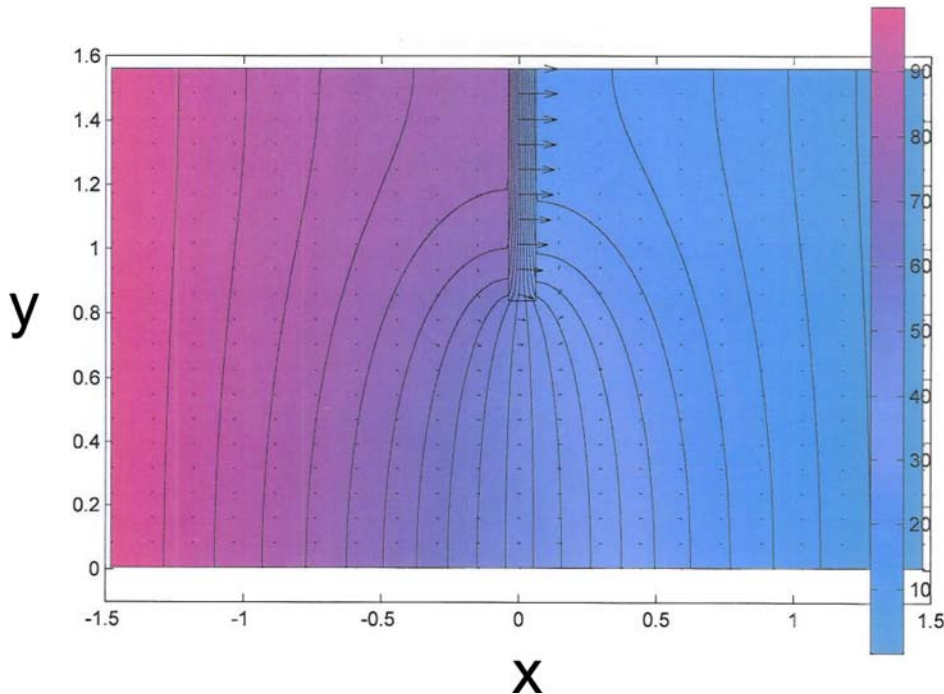
A jelenlegi molekuláris dinamikai szimulációk (R.A. Bockmann et al., Kinetics, statistics, and energetics of lipid membrane electroporation studied by molecular dynamics simulations. Biophys. J. 2008, 95:1837-1850) mutatják, hogy elektromos tér jelenléte fokozza a lipid molekulák membránból való kilépését. Míg alacsony transzmembrán térerő (0-0.1 V/nm) esetén a molekulák átlagos kiválási frekvenciája 1.5/ns-nak adódott, addig az elektroporáció kritikus transzmembrán térerő régiójában ez a szám gyorsan, feltehetően exponenciálisan, emelkedett a térerővel (pl. 3.9/ns-nak adódott 0.393 V/nm-nél). Ezekben a szimulációkban a membrán eredetileg 128 lipid molekulát tartalmazott.

3. Jó volna látni a pórus környéken az ekvipotenciális felületeket, amely így segíthetne megérteni az r^* jelentését.

Válasz a 3. kérdésre

Az értekezésben említjük (1.1.2.5 fejezet), hogy a pórus belsejében a külső potenciál hatására kialakuló teret Jordan tanulmányozta (P.C. Jordan, Electrostatic modeling of ion pores. Biophys. J. 1982, 39:157-164). Jordan cikkének harmadik ábrája a potenciál alakulását mutatja a henger alakú pórus tengelye mentén keskeny pórusok esetén. Jordan továbbá rámutat arra, hogy nagy pórusoknál az elektromos tér csak a membrán belsejében és közvetlen közelében erős.

A pórus környékén lévő ekvipotenciális felületeket kiszámoltam és ezek a következő ábrán láthatók (fekete görbék).



A vonatkozó Laplace egyenlet megoldása numerikusan történt, hasonlóan az 1.2.2 fejezetben leírtakhoz. A jelen esetben azonban a geometria eltérő az alacsony feszültségű elektroporátor geometriájától. A rendszer hengerszimmetrikus és a szimmetria tengely a koordinata rendszer x-tengelyével esik egybe. A szimmetria tengelytől való távolságot az y koordinata adja meg. A szimmetria tengely merőleges a membrán síkjára. A membránfelületek $x = -0.07$ -nél és $x = 0.07$ -nél helyezkednek el. A membránban van egy kör alakú pórus, amelynek a középpontján megy át a rendszer szimmetria tengelye, azaz az x tengely. A pórus sugara $r = 0.85$. A membránt egy hengeralakú térrész veszi körül. A henger szimmetria tengelye az x tengellyel esik egybe. A henger sugara $R = 1.55$. A hengert lezáró síkok $x = -1.45$ -nél és $x = 1.45$ -nél helyezkednek el. A hengert kitöltő folyadék vezetőképessége 24000-szerese a membrán vezetőképességének. Az $x = -1.45$ -nél levő kondenzátor lemez potenciálja 100 Volt, míg az $x = 1.45$ -nél levő kondenzátor lemez potenciálja zero. A tér radiális változását a henger szimmetria tengelyénél és a henger palástján zérónak vettem, azaz $\left. \frac{\partial u(x, y)}{\partial y} \right|_{y=0} = 0$ és $\left. \frac{\partial u(x, y)}{\partial y} \right|_{y=R=1.55} = 0$. A MATLAB program által generált megoldás mutatja, hogy Jordan eredményével megegyezésben a tér

különösen erős a membránban és a membrán közvetlen közelében. Az ábrán a lokális tér irányát a nyíl iránya, erősségét pedig a nyíl hossza jellemzi. A membrán belsejében, közeledve a pórus falhoz, a tér erőssége folyamatosan csökken. Átlépve a folyadék fázisba a térerősség hamarosan eléri a pórus közepéig jelenlévő alacsony térerőt. Az értekezésünkben leírt model közelítésében a membránbeli térerő nem változik amint a pórusfalhoz közelítünk és még a folyadék fázisban is, a pórusfalhoz közel, megmarad. Azonban a pórusfaltól egy kritikus távolság, $r^* = d/5$ (ahol d a membrán vastagságát jelöli), felett a térerő zéróra csökken.

4. A (11)-es képlet meglehetősen bonyolult. Nem egyszerűen az $\exp[-\Delta G/kT] = Z$ Boltzmann eloszlásról van itt szó?

Válasz a 4. kérdésre

Igen, ez a bonyolult képlet azonos a Boltzmann eloszlással abban az esetben ha a pórus állapotot megadó a parameter a következő intervallumra korlátozódik: $0 \leq a \leq a^*$. A bonyolultabb (11)-es képletet használjuk, hogy a sztohasztikus folyamatok formalizmusát kövessük.

5. Kis pozitív Δg (pl. 10^{-5} N/m) esetén nem kapunk hasonló pórusméret-eloszlást (vagyis egy lokális csúcsot véges méretnél), mint zérus vagy negatív Δg esetén? Ez megmagyarázhatná a stabil pórusképződést gyengén megfeszített membránokban.

Válasz az 5. kérdésre

Erre a megjegyzésre a második kérdésnél válaszoltam.

6. Mit jelent az, hogy erős elektromos terek ($U > U_{cr}^{us}$) stabilizálják a metastabil membránt?

A membrán/oldat rendszer Gibbs energiája nagy pórus esetében, $r > r^*$:

$$\Delta G(r) + \Delta G_{el}(r) = -r^2 \pi \cdot \Delta g + 2r\gamma + 0.5\varepsilon_o E_m^2 \pi d [(\varepsilon_m - 1)r^2 - (\varepsilon_w - 1)(r^2 - \{r - r^*\}^2)]$$

Erős elektromos terek esetén a metastabil membrán, $\Delta g > 0$, Gibbs energia függvénye konkávból konvexbe alakul, azaz egy termodinamikailag stabil pórus jelentkezik. Ilyenkor a függvény második deriváltja:

$$\frac{d^2[\Delta G + \Delta G_{el}]}{dr^2} = -2\pi \cdot \Delta g + \varepsilon_o E_m^2 \pi d (\varepsilon_m - 1)$$

pozítív lesz.

7. Mi a szemléletes magyarázata annak, hogy a (19)-es képletben a membrán élettartama a pórusok számának a $-1/2$ -edik hatványával változik?

Válasz a 7. kérdésre

Erre a kérdésre a következő cikkben található meg a válasz: V.B. Arakelyan et al. Electric breakdown of bilayer lipid membranes V. Consideration of the kinetic stage in the case of the membrane containing an arbitrary number of defects. Bioelectrochem. Bioenerg. 1979, 6:81-87. A szerzők által tárgyalt modell szerint a membrán elpattanás két lépéses folyamat: defekt kialakulás és utána membrán elpattanás. A defekt kialakulás valószínűsége egy rövid t_1 időtartam alatt: $k_1 t_1$, ahol k_1 a defekt képződés reakció-kinetikai állandója. Annak valószínűsége, hogy a membrán t_2 idő alatt elpattan: $j t_2$, ahol j a defekt miatt bekövetkező elpattanás reakció-kinetikai állandója. Annak valószínűsége, hogy $t = t_1 + t_2$ idő alatt a membrán elpattan egyetlen defekt kialakulása miatt, arányos a következő kifejezéssel: $j k_1 t^2$. Azonban, annak valószínűsége, hogy az elpattanás bekövetkezik a jelenlévő n defekt bármelyike miatt, arányos az előző kifejezés n -szeresével: $n j k_1 t^2$. Ha t összemérhető a membrán átlagos élettartamával, $\bar{t}$ -vel, akkor az elpattanás valószínűsége közel egyenlő 1-el, azaz: $a n j k_1 \bar{t}^2 \approx 1$ ahol a az arányossági tényező. Eszerint: a membrán élettartama a pórusok számának a $-1/2$ -edik hatványával változik.

8. Az 1.2-es fejezetben mi a magyarázata annak, hogy a pórusképződés valószínűsége arányos $|V| - V_{cr}$ -rel? Mennyiben támasztja ezt alá az 1.1 fejezet modellje?

Válasz a 8. kérdésre

Az 1.2-es fejezet sejtek elektroporációját modellezi. A sejtek zéró külső elektromos tér esetén és fiziológiás ionkoncentrációk esetén nem pattannak el, tehát membránjuk pórusképződésre nézve stabil. Az 1.1 fejezetben a stabil membránokbeli átlagos pórusméretet a feszültség függvényében a 3a,b ábra mutatja. Eszerint az átlagos stacionárius pórusméret ugrásszerűen megnő a kritikus transzmembrán feszültségénél, U_{cr}^s -nél. A pórusképződés kinetikájáról az 5a ábra ad számot. Az ábra szerint a pórusok annál gyorsabban érik el a hidratált ionok vezetéséhez szükséges küszöb méretet

minél nagyobb az $U - U_{cr}^s$ különbség. Kinoshita és munkatársai az ionvezetésre alkalmas membránfelületet ezzel a mennyiséggel veszik arányosnak (K. Kinoshita et al. Electroporation of cell membrane visualized under a pulsed-laser fluorescence microscope. Biophys. J. 1988, 53:1015-1019).

9. Mi az oka annak, hogy a feszültség 40%-a esik a szűrőre? Nem függ ez érzékenyen a berendezés geometriai paramétereitől?

Válasz a 9. kérdésre

Igen, ez a százalék a berendezés geometriai paramétereitől és a kísérleti protokolltól függ. Az 1.2 fejezet elején részletesen megadom a berendezés paramétereit, amelyeket azután a modell megalkotásánál és a számítások során megtartok. A modellezett hengeralakú egység magassága 2cm. Ha a feszültségkülönbség a henger alja és teteje közt 25V, akkor a $13\mu\text{m}$ vastag szűrőn 10V esik. A feszültség jelentős része, 40%, a nagyon vékony szűrőn esik, mert a szűrő felület mentén az átlagos elektromos ellenállás több nagyságrenddel nagyobb mint a környező folyadék elektromos ellenállása. A szűrő felület mentén pedig az átlagos elektromos ellenállás a mikropórusok számától és az egyes mikropórusok átjárhatóságától függ. Esetünkben a szűrő összfelülete: $0.5^2 \pi = 0.7854\text{cm}^2$, a mikropórusok száma: $3.3 \cdot 10^5$, egy mikropórus átjárható felülete: $0.0753\mu\text{m}^2$. Eszerint a szűrő összfelületének csak 0.000296 -od része átjárható, ami a szűrő nagy elektromos ellenállását okozza. Tehát a szűrő egészének átjárhatósága a szűrő gyárilag adott geometriai paramétereitől és az egyes mikropórusok átjárhatóságától függ. Az egyes mikropórusok átjárhatósága a kísérleti protokolltól függ: 1) milyen és mennyi sejtet helyezünk a szűrő feletti terrészbe, és 2) mekkora hidrosztatikai nyomást alkalmazunk a sejteknek a mikropórusokba való beprézésére. Végül megjegyzem, hogy a kísérletekben mindig fiziológias sóoldatot használtunk.

10. A (7)-es képletben a 32. oldalon az $a(t)$ együttható hogyan függ az időtől? Miért kell a V_{appl} a nevezőbe?

Válasz a 10. kérdésre

Kísérleteinkből az $a(t)$ együttható időfüggését nem tudtuk meghatározni. Azonban Hibino és munkatársai, térérzékeny fluoreszcens jelzőkkel végzett, méréseiből tudjuk, hogy a külső elektromos tér jelenlétékor $a(t)$ fokozatosan növekszik. (Lásd a 7. ábrát a következő publikációban: M. Hibino et al.

Time courses of cell electroporation as revealed by submicrosecond imaging of transmembrane potential. Biophys. J. 1993, 64:1789-1800)

A kérdés második felével kapcsolatban köszönöm az észrevételt. V_{appl} nem szükséges a nevezőben és elhagyása nem változtat számításaink eredményén.

11. Mi az oka annak, hogy a kitüremkedő részekben konstans a potenciál, míg az ujjakban enyhén változik?

Válasz a 11. kérdésre

Nehéz biztonsággal értelmezni egy komplikált geometria esetén kapott numerikus megoldást. A vörösvérsejt membrán elektromos vezetőképessége kb. tizedred része a fiziológiás sóoldat vezetőképességének. Tehát a membránon kívüli tér változása valamennyire jelentkezik a sejt belsejében is. Mivel a kitüremkedő részek körül a potenciál változás gyakorlatilag zéró ezért a kitüremkedő részek belsejében is a potenciál változás gyakorlatilag zéró. Az ujjak belsejében jelentkező enyhe potenciál változás az ujjakon kívüli erős potenciálváltozás következménye. Ezt a magyarázatot alátámasztja, hogy 1) az ujjakon belüli és kívüli potenciálcsökkenés iránya megegyezik, 2) a membránvastagság csökkenésével, azaz növekvő membrán vezetőképességgel, az ujjakon belüli potenciálváltozás erősödik (lásd 11b ábrát).

12. A 39. oldalon a fal és a membrán távolsága (t_p) az ellenállásból került meghatározásra. Nem lehet ezt a mennyiséget elméleti úton kiszámolni?

Válasz a 12. kérdésre

Nem tudok elméleti módot t_p kiszámolására. Az ellenállásból kapott $t_p = 0.012 \mu\text{m}$ azonban hasonlóan adódott a membrán vastagságával, $0.01 \mu\text{m}$. Ebből arra lehet következtetni, hogy a mikropórusba szorított sejt membránja megtartja a membrán felületehez kötött vízmolekulákat és a felületi (perifériális) fehérjéket.

13. Számos betűszó jóval az első felhasználás után vagy egyáltalán nem is kerül definiálásra. Ezek (FRAP, DSC, DMPC, DSPC) halmozottan fordulnak elő a 42., 43. oldalon.

Válasz a 13. kérdésre

A betűszók jelentése a következő:

FRAP-fluorescence recovery after photobleaching

DSC-differential scanning calorimetry

DMPC-dimyristolphosphatidylcholine

DSPC-distearoylphosphatidylcholine

SUV-small unilamellar vesicles

MLV-multilamellar vesicles

NMR-nuclear magnetic resonance

ESR-electron spin resonance

14. A 45. oldal (5)-ös képletében ha már egyszer adott az S konfiguráció (vagyis minden egyes lánc típusa (1,2) és állapota (g,l)), akkor ennek a multiplicitásához nem elég az egyes láncok multiplicitását összeszorozni? Más szóval nem csak az első négy factor szorzatát kellene itt venni?

Válasz a 14. kérdésre

Az 50. oldalon megemlítjük, hogy “In estimating these parameters, it was assumed that the w_{ij}^{kl} parameters are independent of temperature”. Ami azt jelenti, hogy valóban a számolásokkor az (5)-ös képlet első négy faktorának szorzatát vettük csak figyelembe.

15. A Monte Carlo ciklus definíciója nem világos. Az egyes elemi lépésekből hányat tartalmaz egy ciklus?

Válasz a 15. kérdésre

A Monte Carlo ciklus definíciója világosabban van leírva a Biophysical Journal-ban 1999-ben publikált cikkünkben (Sugár I.P. et al. Monte Carlo simulation of two-component bilayers: DMPC/DSPC mixtures. Biophys. J. 1999, 76:2099-2110). Eszerint egy cikluson belül N -szer próbáljuk megváltoztatni a véletlenszerűen kiválasztott szénhidrogén láncok állapotát (fluidról gélre vagy fordítva; N a rácspontok, vagy szénhidrogén láncok száma). $N_h/2$ -szer próbáljuk megcserélni a véletlenszerűen kiválasztott 1-es és 2-es komponenspárokat (ahol $N_h/2$ a keverékben kisebb mennyiségben előforduló komponens száma). $4N/3$ -szor próbáljuk megváltoztatni a véletlenszerűen kiválasztott egymás melletti molekulák orientációját. Végül pedig egy cikluson belül egyszer próbáljuk megváltoztatni egyszerre minden egyes szénhidrogén lánc állapotát (azaz, minden gél állapotú láncot fluidra és minden fluid állapotú láncot gélre).

16. A modell 10 paraméterét mennyire egyértelműen határozza meg a kísérleti adatokhoz való illesztés? Vagy másképpen, mennyire érzékenyek a kapott görbék a modell paramétereire?

Válasz a 16. kérdésre

A kérdésre a válasz a következő cikkünkben található: Sugár I.P. et al. Monte Carlo simulation of two-component bilayers: DMPC/DSPC mixtures. Biophys. J. 1999, 76:2099-2110, pontosabban a 2102. oldal alján az 1-es és a 2-es pontokban:

1. In our model, three parameters are required to describe the heat capacity curve of a pure lipid bilayer: the energy change, ΔE_i , the entropy change, ΔS_i and the parameter, w_{ii}^{gl} . The first is estimated by the integral of the heat capacity curve, and the second is estimated from the energy change and temperature at the position of the maximum of the heat capacity curve, both experimental parameters. The experimental error of the transition enthalpy is less than 10%. Because the error of the temperature measurement is very small, the error of the transition entropy is also less than 10%. The third parameter, w_{ii}^{gl} is the only adjustable parameter and is very robust in terms of precisely defining the height and shape of the heat capacity curve. For example, changes in w_{ii}^{gl} by less than 10% can produce a four-fold change in the maximum value of the heat capacity curve. The experimental error in the maximum value of the excess heat capacity curve is less than 5%.

2. For analysis of the mixed systems, ten parameters are required, six of which are defined by analysis of the two pure systems, whereas the other four were determined by two separate exhaustive searches with a single mixed system. The parameter search was manageable because w_{12}^{gg} and w_{12}^{ll}

parameters are largely uncorrelated with w_{12}^{gl} and w_{12}^{lg} parameters as far as their effect on the shapes of the heat capacity curves, and thus, separate exhaustive searches could be made for the values of these two pairs of w parameters. After these four parameters were estimated, their adequacy to reproduce the heat capacity curves for nine mixtures ranging from 10% to 90% DSPC was tested. If satisfactory agreement was achieved, the parameters were assumed to be correct. It should be noted that a change of $\leq \pm 5$ cal/mol-chain in any of these four parameters did not alter significantly the shape of the simulated heat capacity curves. It appears that the set of parameters

deduced for this system is unique and quite robust.

17. A 72. oldalon a (2)-es képlet nem világos. Miért tekinthető f és u statisztikailag függetlennek?

Adott f esetén pl. miért nem függ u valószínűsége attól, hogy milyen messze van ($A_p - f$)-től? Ha fel is tennénk, hogy függetlenek, akkor a p_f és p_u valószínűségek miért függenek egyszerre f -től is és u -tól is?

Válasz a 17. kérdésre

A (2)-es képletben p_f az n molekulához tartozó szabad felület, f , valószínűség sűrűsége és p_u az n molekulához tartozó diszkrét felület, u , valószínűség sűrűsége. Ez a két felület fizikai szempontból független egymástól. Amíg n értéke nincs korlátozva, p_f -ben nem jelentkezik u (lásd (4)-es egyenletet) és p_u -ban nem jelentkezik f (lásd (8)-as egyenletet). Amikor n értékét korlátozzuk az (5)-ös egyenlettel, azaz amikor egy adott felületen, A_p , belüli helyzetet tekintjük, n -t megadhatjuk mint f és u függvényét és így mind f mind pedig u megjelennek a p_f -re és p_u -ra vonatkozó képletekben. Ez azonban nem jelenti azt, hogy a két felület, f és u , fizikai szempontból függőkké válnak egymástól.

18. A (3)-as képlet fölött Poisson eloszlás helyett nem exponenciális eloszlás értendő?

Válasz a 18. kérdésre

Igen, a (3)-as képlet fölött Poisson eloszlás helyett exponenciális eloszlás értendő.

19. A jelölt a 102. oldalon megjegyzi, hogy a hámsejtek képesek lehetnek a kommunikációjukat szabályozni a mikrovillusok geometriájának megváltoztatásával. Van kísérleti bizonyíték ilyen folyamatokra? Nem lenne egyszerűbb a kommunikációt szabályozni a kibocsátott jelölőmolekulák mennyiségének változtatásával?

Tudtommal nincs kísérleti bizonyíték arra, hogy a hámsejtek szabályozzák egymás közti kommunikációjukat a mikrovillusok geometriájának megváltoztatásával. Az ötletet számításaim eredménye adta: nevezetesen, hogy a geometria kis, 2%-os, megváltozása nagyon, 250%-al, megnövelte a hámsejtek közötti kommunikáció intenzitását. Ezt az ötletet, úgy gondolom,

alátámasztja az a tény, hogy minden egyes microvillusban aktin filamentumok találhatók, amelyek nagyon hatékonyan és gyorsan megváltoztathatják a microvillus geometriáját. Az aktin filamentum állandóan lebomlik és újra képződik (depolimerizál és polimerizál) egy 'treadmilling'-nek nevezett folyamatban, amit a nagyszámú aktin kötő fehérje szabályoz. A polimerizáció során egy új aktin monomér kapcsolódik a filamentum végéhez. Miután az aktin monomér ATP-t és a filamentumban lévő aktin protomér ADP-t tartalmaz egy új monomér csatlakozása a filamentumhoz csak egyetlen ATP molekula hidrolizisét igényli. Válaszolva a kérdés második felére mondhatjuk, hogy általában valóban az történik, hogy a sejt több jelzőmolekulát kezd termelni és így növeli a kommunikáció intenzitását. Úgy gondolom azonban, hogy speciálisan a hámsejtek esetében a fentemlített másik mechanizmus is szóba jöhet különös hatékonysága és gyorsasága miatt.