

Física Biológica/Biofísica

Cuarta Teórica

Veamos una aplicación de una distribución de probabilidad.

Supongamos una célula que se divide en dos células hijas.

¿Cuántas moléculas de un dado tipo van a una o a otra hija?

¿Se puede hacer un experimento para determinarlo?

¿Cómo contar moléculas?

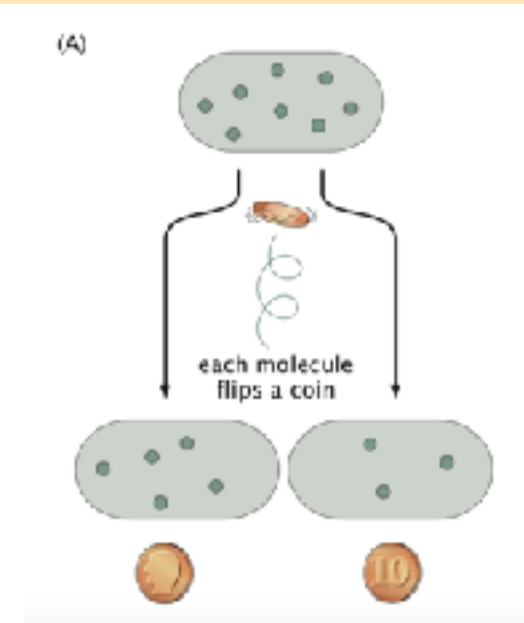
Se pueden contar si se las ve y son discernibles entre sí.

¿Cómo ver moléculas?

Marcándolas con un indicador fluorescente

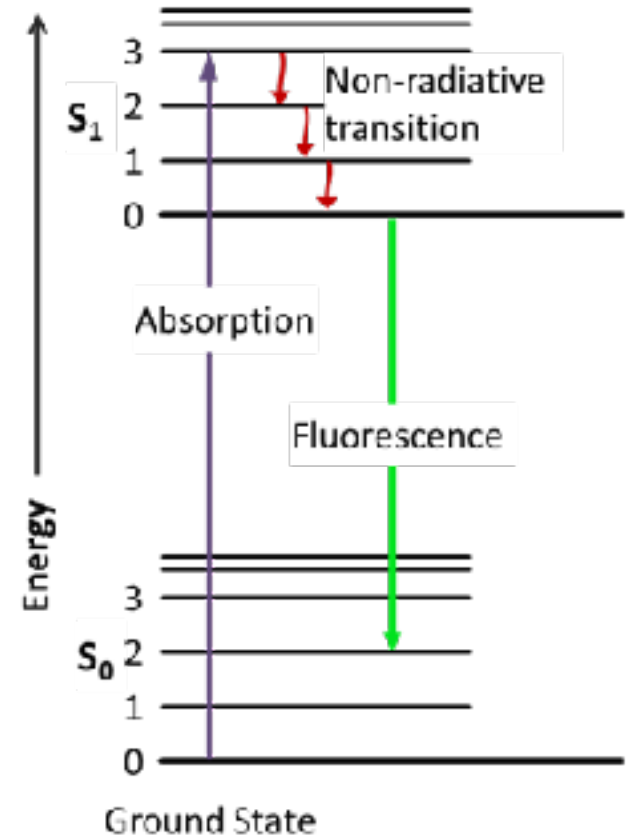
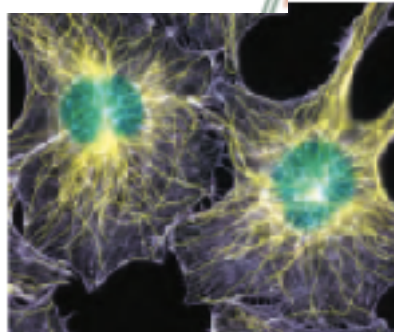
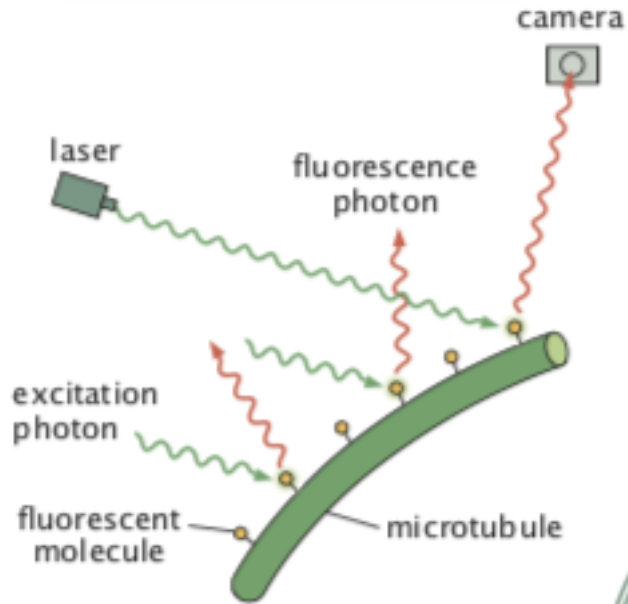
¿Cómo pasar de fluorescencia a número de moléculas?

No es tan fácil porque el coeficiente de proporcionalidad, α , entre ambas variables depende de varios factores



Digresión sobre fluorescencia

(A) FLUORESCENCE MICROSCOPY



De Phys Biol of the Cell

By Jacobkhed - Own work, CC0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=19180813>

El factor, α , entre número de moléculas fluorescentes en una célula y el número de fotones emitidos en un cierto tiempo desde esa célula depende de la iluminación, de la detección, etc.

En el artículo publicado en la revista Science en 2005:

Gene Regulation at the Single-Cell Level

Nitzan Rosenfeld,^{1*} Jonathan W. Young,³ Uri Alon,¹
Peter S. Swain,^{2*} Michael B. Elowitz^{3†}

hicieron experimentos con *E. Coli* para cuantificar la variabilidad en la transcripción a nivel de células únicas.

Para cuantificar esa variabilidad los autores desarrollaron un método que permitía determinar la relación entre número de moléculas fluorescentes y e intensidad de la fluorescencia emitida en base a las fluctuaciones (ver e.g. capítulos sobre probabilidad del libro Physical Modeling of Living Systems o “variabilidad entre células en el censo celular” en las páginas del libro de Rob Phillips incluidas en la guía 2 de donde saqué la figura de la transparencia anterior).

Eso les permitió también determinar cuántas moléculas (fluorescentes) de un tipo recibía cada una de las hijas de una dada madre.

En el problema tenemos las siguientes variables aleatorias:

M_0 : número de moléculas fluorescentes (de un tipo) en la madre, inmediatamente antes de la división

M_1 y M_2 : número de moléculas fluorescentes (del mismo tipo) en cada una de las hijas, inmediatamente después de la división

$$M_0 = M_1 + M_2$$

Y_0 : intensidad de fluorescencia emitida por la madre, inmediatamente antes de la división

Y_1 y Y_2 : intensidad de fluorescencia emitida por cada una de las hijas, inmediatamente después de la división

$$Y_0 = \alpha M_0, Y_1 = \alpha M_1 \text{ y } Y_2 = \alpha M_2$$

Observación experimental: las dos células hijas tienen aproximadamente el mismo volumen inmediatamente después de la división.

Podemos esperar que M_1 y M_2 sean parecidos.

Sabemos que $M_1 + M_2 = M_0$ y podemos esperar que $M_1 \approx M_2$

¿Cómo podemos describir esto un poco más cuantitativamente?

Cada molécula fluorescente de la madre tiene una probabilidad $p=1/2$ de “caer” en una o en otra hija.

Dado un número, M_0 , de moléculas en la madre, ¿cuál es la probabilidad de que $M_1 = k$ (y que $M_2 = M_0 - k$)?

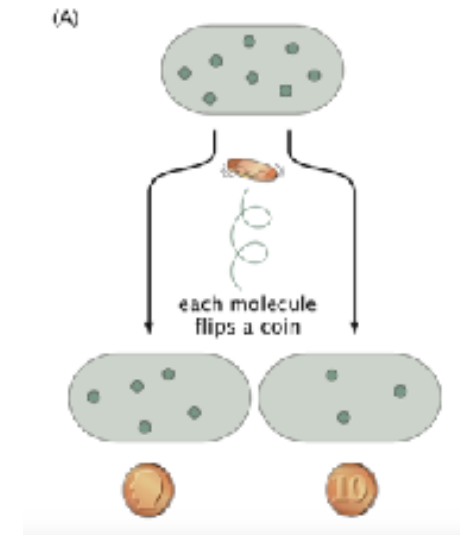
Dado M_0 , la distribución de probabilidad de los valores que puede tomar M_1 es $\text{Bin}(M_0, 1/2)$.

Por lo tanto, para un dado M_0 es $\text{Var}(M_1) = \text{Var}(M_2) = M_0 \cdot 1/2 \cdot (1-1/2)$

Definimos: $\Delta M = M_1 - M_2 = 2 M_1 - M_0$

Dado un valor, M_0 , la varianza de ΔM es:

$$\begin{aligned}\text{Var}(\Delta M) &= \langle (\Delta M - \langle \Delta M \rangle)^2 \rangle = \langle (2 M_1 - M_0 - \langle 2 M_1 - M_0 \rangle)^2 \rangle = \\ &\langle (2 M_1 - M_0 - \langle 2 M_1 \rangle + \langle M_0 \rangle)^2 \rangle = \langle (2 M_1 - \langle 2 M_1 \rangle)^2 \rangle = 4 \langle (M_1 - \langle M_1 \rangle)^2 \rangle \\ &= 4 \text{Var}(M_1) = 4 M_0 \cdot 1/2 \cdot (1-1/2) = M_0\end{aligned}$$



Pasando a fluorescencia, $Y = \alpha M$:

$$\text{Var}(\Delta Y) = \langle (\alpha \Delta M - \alpha \langle \Delta M \rangle)^2 \rangle = \alpha^2 \langle (\Delta M - \langle \Delta M \rangle)^2 \rangle = \alpha^2 \text{Var}(\Delta M) = \alpha^2 M_0 = \alpha Y_0$$

O sea, dado Y_0 , el desvío de ΔY es $(\alpha Y_0)^{1/2}$

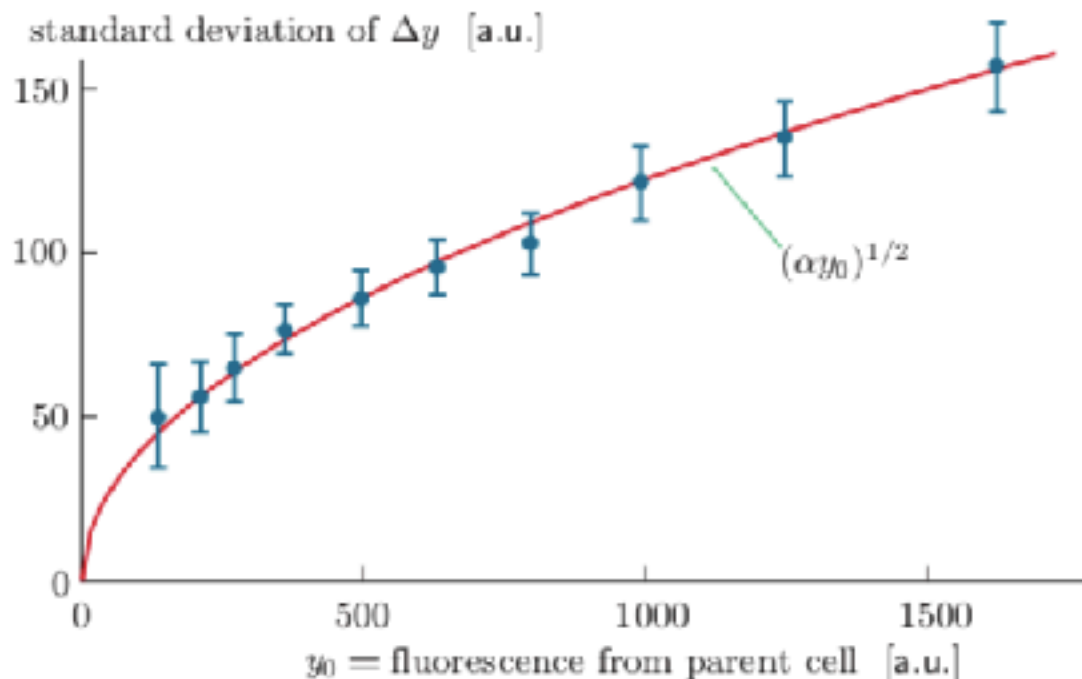


Figure 4.2 [Experimental data with fit.] **Calibration of a single-molecule fluorescence measurement.** *Horizontal axis:* Measured fluorescence intensity of cells prior to division. *Vertical axis:* Sample standard deviation of the partitioning error of cell fluorescence after division. *Error bars* indicate that this quantity is uncertain due in part to the finite number of cells observed. *Red curve:* The predicted function from Idea 4.2. The best-fit value of the parameter α is 15 fluorescence units per tagged molecule. [Data from Rosenfeld et al., 2005.]

A partir del gráfico de ΔY vs Y_0 se obtiene α .

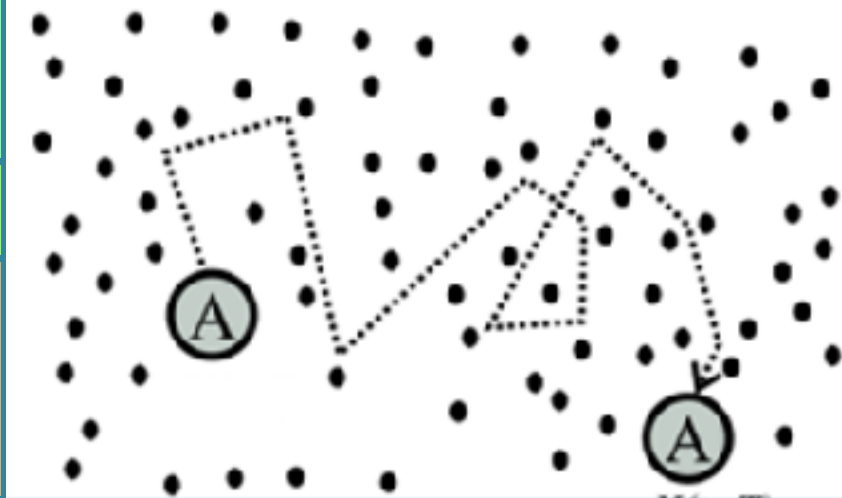
La clase pasada hablamos de temperatura y vimos cómo era una medida de la aleatoriedad de las velocidades de un gas ($k_B T/m \sim \text{Var}(\text{velocidad})$) y también del movimiento de moléculas inmersas en una solución, por ejemplo, acuosa.

En este segundo ejemplo (muy relevante para lo que pasa en las células), las moléculas de soluto chocan con las de solvente intercambiando momento lineal y energía con ese medio y variando su dirección de movimiento constantemente.

Las moléculas de soluto realizan un **paseo al azar** en este medio.

Entre choques $v \sim v_T \sim (k_B T/m)^{1/2}$

Chocan muy seguido, porque la separación entre las moléculas de agua es $\sim 0.3\text{nm}$.



Esos choques continuos hacen que se desplacen mucho menos que si se movieran en línea recta con la velocidad $v \sim v_T$. Además, como vamos a ver, el desplazamiento neto de las partículas que difunden durante un tiempo, t , no es proporcional a t sino a $t^{1/2}$.

Estos paseos al azar (o movimiento Browniano) fue observado por Perrin en granos de polen que chocaban contra moléculas de agua.

El CNRS de Francia puso disponible una película del Laboratoire de chimie physique de la Sorbonne / Office national des recherches scientifiques et industrielles & des inventions hecha en 1923 por Jean Perrin.

A los 59 segundos de este video: <https://images.cnrs.fr/video/2080> se ve una filmación del movimiento browniano (que se vuelve a mostrar en otras partes de la película que también explica cómo hacer una emulsión y cómo se ven las moléculas en ella).

En este video que es parte de un tutorial sobre paseos al azar también se ve la película del polen.

<https://www.youtube.com/watch?v=89LP5pHWxM8&list=PLF0b3ThojznQrm1zjRtEzh1Z5OtkN90lu&index=2>

Después pasaremos al pizarrón.