



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas

Motores Moleculares: Análisis Cinético de la Cinesina

Tesis presentada al

Posgrado en Física Aplicada

como requisito parcial para la obtención del grado de

Maestro en Ciencias

(Física Aplicada)

por

Lic. Ricardo Antonio Méndez Álvarez

asesorado por

Dr. José Noé F. Herrera Pacheco

Puebla Pue.
Diciembre 2016



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas

Motores Moleculares: Análisis Cinético de la Cinesina

Tesis presentada al

Posgrado en Física Aplicada

como requisito parcial para la obtención del grado de

Maestro en Ciencias

(Física Aplicada)

por

Lic. Ricardo Antonio Méndez Álvarez

asesorado por

Dr. José Noé F. Herrera Pacheco

Puebla Pue.
Diciembre 2016

Título: Motores Moleculares: Análisis Cinético de la Cinesina
Estudiante: Lic. Ricardo Antonio Méndez Álvarez

COMITÉ

Dr. Eduardo González Jiménez
Presidente

Dra. Lorena Milflores Flores
Secretario

Dra. Alexandra Deriabina
Vocal

Dr. Adrián Apolinar Hernández Santiago
Suplente

Dr. José Noé F. Herrera Pacheco
Asesor

A los que caminan sin sentido..

Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a mi familia: Guadalupe, Alma y Maclovia quienes me han apoyado a lo largo de mi formación, dándome una cálida compañía y animándome siempre para llegar más lejos; a Antonio quien me da palabras de aliento para seguir cada día.

*A Isabel, mi Isabel, quien me ha brindado su cariño y paciencia, su ánimo y su bella sonrisa para disfrutar cada día aún en las pequeñas cosas, compartiendo la ciencia y la vida o mejor dicho...
la ciencia de la vida.*

Al Dr. Noé, con quien me es grato trabajar, que siempre tiene nuevas formas de “mirar el mundo con los ojos de la imaginación” y, que sin duda, ha sido esencial para la elaboración de esta investigación, por su gran interés en este trabajo y por las sugerencias y correcciones que le dieron forma final al mismo.

Al cuerpo de trabajo del profesor Noé, quienes han ayudado a mejorar mi formación dando comentarios críticos en el momento preciso, por compartir esos recesos “obligados” cuando era necesario, por esas bromas y risas antes de cada sesión de trabajo.

A mis compañeros del posgrado y de la licenciatura, por esos breves momentos que hemos compartido, cuyas convivencias le dan ese matiz a cada día en esta universidad.

A los profesores de la FCFM y del IFUAP, quienes compartieron más que una clase en el pizarrón.

A los miembros del jurado, cuyas revisiones ayudaron a mejorar este trabajo.

A CONACYT por la beca de maestría otorgada.

Y una vez más, a Dios Elohim por esto y todo lo demás.

¡Gracias!

Índice general

Introducción	XIII
1. Proteínas	1
1.1. Estructura de las proteínas	2
1.2. Funciones de las proteínas	4
1.3. Citoesqueleto	4
1.3.1. Microtúbulo	5
1.4. Proteínas motoras	5
1.4.1. Cinesina	7
1.4.2. Estudios sobre la cinesina	8
2. Sistemas fuera de equilibrio	11
2.1. Producción local de entropía	12
2.2. Reacciones químicas	13
2.2.1. Orden de la reacción	15
2.2.2. Reacciones químicas complejas	17
2.2.3. Estado estacionario	17
2.2.4. Aproximación al equilibrio químico	18
2.3. Catálisis enzimática	18
2.3.1. Ley de Michaelis - Menten	19
2.3.2. Inhibición competitiva	20
2.3.3. Mecanismo de Michaelis-Menten modificado	21
3. Movimiento browniano	23
3.1. Ecuación de Langevin	24
3.2. Motores brownianos	26
3.2.1. Ratchet de Feynman	26
3.2.2. Ecuación de Langevin generalizada	28
4. La cinesina como un motor browniano	29
4.1. Motores brownianos acoplados	29
4.2. Potencial ratchet	30
4.3. Trayectorias: Primera aproximación	31
4.4. Potencial Ratchet: Modelo bioquímico	34
4.4.1. Análisis del potencial ΔG	39

4.5. Trayectorias: Segunda aproximación	40
5. Conclusiones	49
A. Leyes de conservación locales	51
A.1. Conservación de masa	51
A.2. Ecuación de movimiento	52
A.3. Conservación de la energía	52
B. Teorema de fluctuación-Disipación	55
C. Métodos Numéricos	59
C.1. Ecuaciones diferenciales de segundo grado	59
C.2. Método de Euler	60
C.3. Método de Runge-Kutta	61
Bibliografía	63

Índice de figuras

1.1. Estructura general de un aminoácido	2
1.2. Enlace peptídico entre dos aminoácidos	3
1.3. Representación gráfica del microtúbulo y la cinesina. El primero formado por dos clases de tubulinas (α y β), sobre el cual se desliza una proteína de dos cabezas globulares.	6
1.4. Estructura de la cinesina que exhibe las dos cabezas globulares, dos cadenas ligeras, y el dominio cola (de izquierda a derecha).	8
1.5. Experimento de pinzas ópticas que revela pasos discretos de $8nm$ de longitud para una cinesina sujeta a una fuerza de $6.5pN$. Tomado del original de Vissler <i>et al.</i> , 1999 [2, 11, 16].	10
3.1. En color gris se muestra un ensamble de trayectorias probables para una partícula browniana, mientras que en color negro se muestra la trayectoria promedio de la partícula browniana. Note que la posición promedio se encuentra alrededor de la posición inicial $x = 0$	25
3.2. Experimento pensado: <i>ratchet</i> de Feynman	27
4.1. Gráfica del potencial <i>ratchet</i> de Mateos	30
4.2. Comparación entre las gráficas de dos modelos de potencial <i>ratchet</i> . La línea punteada representa al potencial triangular mientras que la línea sólida representa al potencial de Mateos.	31
4.3. Comparación entre las gráficas de las fuerzas asociadas al potencial <i>ratchet</i> . La línea punteada representa la fuerza asociada al potencial triangular mientras que la línea sólida representa la fuerza asociada al potencial de Mateos.	32
4.4. Comparación gráfica de trayectorias obtenidas a partir de dos expresiones diferentes del potencial <i>ratchet</i> . La línea negra fue obtenida para el potencial de Mateos mientras que la línea gris representa el resultado obtenido para el potencial triangular.	33
4.5. Trayectoria típica reportada para tres tipos de cinesinas diferentes. Se observa una trayectoria formada por un total de 354 pasos de 35 cinesinas observadas, el promedio de paso es de $17.3 \text{ nm} \pm 3.3 \text{ nm}$. Imagen tomada del original de Yildiz, <i>et al.</i> [13].	33
4.6. Paso 0: La cinesina se une al microtúbulo liberando una molécula de ADP	34
4.7. Paso 1: Se une una molécula de ATP a la cabeza α para crear un enlace más fuerte al microtúbulo.	34
4.8. Paso 2: La cinesina sufre un cambio conformacional inducido por la unión de la molécula de ATP.	35

4.9. Paso 3: La cabeza β se une al siguiente sitio disponible del microtúbulo.	35
4.10. Paso 4: La cabeza β libera su molécula de <i>ADP</i> para crear un enlace más fuerte con el microtúbulo.	35
4.11. Paso 5: Se lleva a cabo la hidrólisis del <i>ATP</i> en la cabeza α	36
4.12. Paso 6: La hidrólisis suministra la energía suficiente para que la cabeza α se separe del microtúbulo.	36
4.13. Gráfica de la ecuación (4.16) que muestra el paisaje de la energía libre de Gibbs para el mecanismo de seis reacciones de la cinesina que modela un paso de la cinesina sobre el microtúbulo. Datos tomados parcialmente de [9, 15, 26].	38
4.14. Gráfica de la energía libre de Gibbs como un potencial periódico que modela el desplazamiento de la cinesina sobre el microtúbulo.	39
4.15. Gráfica de dos potenciales propuestos por Mateos. La línea punteada en gris representa el potencial de <i>ratchet</i> . En negro se muestra el potencial biestable. Se uso un corrimiento en x_0 , de manera que el periodo de ambos coincidieran en un ciclo [14].	40
4.16. Gráfica que muestra la suma de dos potenciales propuestos por Mateos, que tiene la misma forma que el potencial de Gibbs, Fig.(4.13).	41
4.17. Gráfica que muestra un ensamble de 100 trayectorias para un tiempo total de 100s. Se uso este número de trayectorias para no saturar la imagen y, al mismo tiempo, tener un panorama general del comportamiento del sistema. La velocidad promedio obtenida es de $\langle v \rangle \sim 83.68nm/s$	42
4.18. Gráfica que muestra las trayectorias promedio obtenidas para diferente número de trayectorias en el ensamble.	43
4.19. Gráfica del <i>msd</i> calculado para un tiempo total $t = 10000s$ y promediado sobre 100 trayectorias. Ambas gráficas muestran los mismos datos: (a) Gráfica de <i>msd</i> tomando el logaritmo de los datos para una interpretación más sencilla del parámetro ν que se puede modelar por la Ec. (4.25). (b) Gráfica del <i>msd</i>	44
4.20. Gráfica del <i>msd</i> para <i>tiempos cortos</i> , con datos tomados de la Fig.(4.19). Ambas gráficas muestran el ajuste realizado con los valores mostrados en la Tabla(4.2): (a) Ajuste del <i>msd</i> a una recta de la forma Ec. (4.25). (b) Ajuste del logaritmo del <i>msd</i> a una función potencia de la forma Ec. (4.23).	45
4.21. Gráfica del <i>msd</i> para <i>tiempos largos</i> , con datos tomados de la Fig.(4.19). Ambas gráficas muestran el ajuste realizado con los valores mostrados en la Tabla(4.2): (a) Ajuste del <i>msd</i> a una recta de la forma Ec. (4.25). (b) Ajuste del logaritmo del <i>msd</i> a una función potencia de la forma Ec. (4.23).	46
4.22. En negro se presenta el conjunto de datos <i>experimentales</i> reproducidos por nuestro algoritmo, mientras que los puntos en gris representan los resultados experimentales [13].	46

Índice de tablas

2.1. Concentración de los reactivos en función del tiempo	16
4.1. Velocidad promedio en función del número de trayectorias del ensamble.	43
4.2. Valores de los parámetros de ajuste obtenidos por el algoritmo NLLS para diferentes intervalos de tiempo. Los errores obtenidos son menores al 0.5%	45

Introducción

En 1963 Richard Feynman, en sus famosas Lecturas de Física, propuso un experimento pensado conocido como el *Ratchet de Feynman* el cual consolidó una de las primeras ideas para un *motor de dimensiones nanoscópicas*. Increíblemente, después de más de 40 años, esta propuesta ha servido de inspiración para describir motores brownianos en la naturaleza y para crear motores artificiales con fines específicos, ya que el hecho de crear motores nanoscópicos permitirá grandes avances en diferentes áreas como lo es la medicina, donde se planea usar nanomotores para transportar elementos específicos (como fármacos) a zonas particulares del cuerpo.

Alrededor del año 1950 se descubrió la presencia de un tipo de *nanomotores* presentes en los sistemas vivos, los cuales son llamados en la actualidad como: *motores moleculares*. En esa época, se descubrió que en el interior de la célula, se hallan un tipo de proteínas muy particulares que se encargan de transportar diversos elementos, ya sea hacia el exterior o en el interior de la misma célula. Éstas se llaman proteínas motoras y actualmente se conocen tres grandes superfamilias: cinesina, dineína y miosina. Cada familia cuenta con cientos de miembros dependiendo del organismo del que se trate, algunos miembros son parecidos en estructura, función y secuencia de aminoácidos, sin embargo otros miembros de la familia llegan a ser totalmente diferentes. Dado la complejidad de estas estructuras ha sido muy difícil explicar cómo es que estos diminutos motores logran llevar a cabo estas funciones con una alta eficiencia. En particular, la cinesina juega un rol importante en el interior de la célula, ésta transporta diferentes elementos como nutrientes o vesículas desde el centro de la célula hacia la periferia celular, moviéndose sobre rieles llamados microtúbulos, utilizando la hidrólisis del ATP como fuente de energía. De manera sorprendente la cinesina logra transportar vesículas que superan varias veces las dimensiones del mismo motor, y todo esto a pesar de estar inmersos en un medio donde las fluctuaciones térmicas son relevantes. Es por ello que ha sido un desafío para la física modelar el comportamiento de estos diminutos sistemas, pero a su vez es de gran interés entender el mecanismo mediante el cual transforman energía química en movimiento, ya que esto daría lugar a crear nanomotores que transporten unidades específicas en un entorno artificial, o incluso dentro del mismo cuerpo a lugares determinados. Sin embargo fue hasta finales del siglo XX que se propusieron modelos matemáticos con aportaciones de la física, química y biología, para intentar describir la dinámica de dichos motores.

Para estudiar estos sistemas tan complejos primero debemos reducir y concretar nuestro sistema de interés. El presente trabajo se enfoca en comprender y describir por medio de un modelo físico y bioquímico a una proteína motora en particular: la cinesina *I* (o cinesina convencional), la cual describiremos a detalle en el desarrollo de este trabajo. Es por ello que la primera parte de esta investigación se orienta en hacer una revisión del conocimiento actual del tema a través de diversas fuentes; en el capítulo uno se aborda el concepto de qué son las proteínas motoras hasta los experimentos y resultados que han podido determinar parte de su estructura y describir su

cinética, y ya que la cinesina es una proteína con actividad catalítica, en el capítulo dos muestran las bases teóricas para describir y modelar reacciones químicas.

Por otra parte, el movimiento de estos motores se describe de manera estándar a través de la ecuación de Langevin generalizada, la cual es una ecuación de movimiento que contiene la contribución de las fuerzas que afectan el movimiento del motor, sin embargo los términos que aparecen en dicha ecuación, aunque tienen una justificación matemática, no se han consolidado completamente en términos de las leyes de la física. Por esta razón en el capítulo tres se muestran las bases físicas para sistemas en los que el comportamiento está determinado por las fluctuaciones térmicas, y el capítulo cuatro se enfoca en analizar algunos de los modelos propuestos en la literatura actual, comparando la ventaja de unos con respecto a otros y sobre todo, se hace una propuesta para los parámetros que aparecen en la ecuación de movimiento tomando como referencia los resultados experimentales discutidos en la primera parte. En la parte final, se presentan los resultados obtenidos a través de un algoritmo computacional de mi propia autoría, que modela el comportamiento de una cinesina a lo largo del microtúbulo, mostrando que la aproximación propuesta logra dar resultados comparables a los que han sido reportados experimentalmente para la velocidad promedio, además de reproducir las trayectorias típicas para la cinesina.

Cabe mencionar que parte del material expuesto en este escrito fue ampliamente enriquecido por el curso de biología molecular impartido por la Dra. Milflores Flores, con el cual se logró tener un panorama más amplio sobre el entorno biológico de nuestro sistema, así como de la participación en el Congreso Nacional de Bioquímica donde confirmamos los parámetros y las condiciones experimentales en las que se desarrolla el movimiento de la cinesina *in vitro*.

Capítulo 1

Proteínas

En este capítulo se introducirán algunos de los conceptos biológicos necesarios para entender y estudiar los motores moleculares, en particular se hablará acerca de las proteínas ya que éstas, al tener una gran diversidad de funciones y estructuras, llegan a participar de manera activa en el transporte de diferentes elementos en el interior de la célula, ¿qué es lo que determina su gran variedad de funciones? Para responder esta pregunta es importante conocer cuáles son las unidades fundamentales de las que están constituidas, que dan lugar a estructuras tan diversas y complicadas.

Las proteínas están compuestas por pequeñas subunidades llamadas aminoácidos, los veinte aminoácidos más comunes son llamados α -aminoácidos ya que están compuestos por un carbono central (C_α) unido a cuatro grupos: grupo amino ($-NH_2$), grupo carboxilo ($-COOH$), un átomo de hidrógeno (H) y un residuo (R), Fig.(1.1). Lo que diferencia un aminoácido de otro es su cadena lateral o residuo, la cual varía en estructura química, tamaño y carga eléctrica, y a su vez estos elementos cambian la solubilidad del aminoácido en agua. Existen veinte tipos posibles de cadenas laterales (R) divididas básicamente en tres grupos diferentes: polares, cargadas e hidrofóbicas, precisamente las interacciones de estas últimas con otras cadenas o con el medio que los rodea (generalmente agua) es lo que determina la estructura tridimensional de las proteínas. Aunque las proteínas son moléculas muy complejas que por lo general están constituidas por cientos y a veces miles de aminoácidos, la adquisición de la estructura de la proteína sigue reglas simples de la física y la química, las cadenas laterales hidrofóbicas se encuentran en el interior de la proteína mientras que las cadenas laterales polares están expuestas al solvente que rodea las proteínas, lo cual resulta de la tendencia natural de los grupos hidrofóbicos a rechazar el agua, y de la afinidad de los grupos polares por el agua, y es por ello que muchos investigadores consideran que la presencia de agua en los sistemas biológicos ha sido un factor determinante en la evolución de las proteínas [1, 2, 3, 4, 5].

A pesar del gran número de aminoácidos que forman a las proteínas, éstas solo están formadas, comúnmente, por veinte diferentes tipos de aminoácidos. En general las proteínas no tienen el mismo número de aminoácidos, algunas solo utilizan cierto número de ellos pero lo que finalmente define la estructura tan compleja de las proteínas es la manera en que éstos se combinan, determinando así el tipo de interacción con sus alrededores y no depende tanto del número total de aminoácidos que participen en la estructura [1, 4].

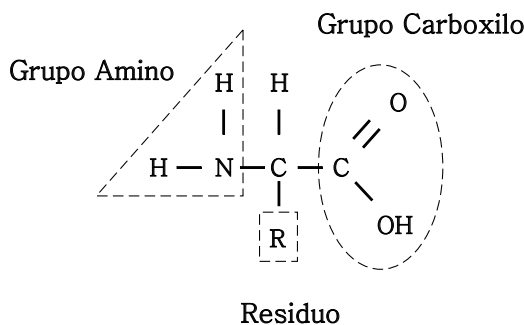


Figura 1.1: Estructura general de un aminoácido

1.1. Estructura de las proteínas

En el nivel más básico las proteínas tienen una secuencia particular de aminoácidos y dependiendo de esta secuencia particular, la proteína asociada tomará una estructura concreta que le permitirá llevar a cabo funciones muy especializadas. Para formar estas estructuras los aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos, Fig.(1.2), cuando dos aminoácidos se combinan en una reacción de condensación entre el grupo amino del primero y el grupo carboxilo del segundo se libera una molécula de agua y se forma un enlace amida, a lo que se le conoce como enlace peptídico¹. De esta manera, las proteínas están formadas por varios aminoácidos unidos por medio de enlaces peptídicos, comúnmente llamados polipéptidos.

Existen diferentes niveles de complejidad en los cuales se puede dividir la estructura de las proteínas, ordenadas en una clase de jerarquía [1]. A pesar de la complejidad de las proteínas, en el esqueleto de todas ellas existe un arreglo repetitivo de átomos de carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O) e hidrógeno (H), los cuales no aparecen al azar sino que su aparición tiene consecuencias en la estructura de la proteína, una de ellas es la presencia de un carbono alfa (C_α), el cual aparece periódicamente cada tres átomos de la cadena principal. La descripción de los enlaces peptídicos y la secuencia específica de las aminoácidos en la cadena se conoce como la **estructura primaria** de la proteína. Otro punto importante sobre la estructura primaria es la naturaleza del enlace covalente presente en la estructura del polipéptido: el enlace peptídico tiene un carácter parcial de doble enlace, lo que implica que los seis átomos que participan en este enlace no se puedan mover los unos respecto a los otros, quedando confinados en un mismo plano, el cual se define por la rotación permitida en los enlaces $N - C_\alpha$ y $C_\alpha - C$, que se caracterizan por dos ángulos diedros: ϕ y ψ , respectivamente. Por ello, la estructura de la cadena peptídica puede ser visualizada como una serie de planos rígidos, donde dos planos consecutivos comparten un punto de rotación en C_α .

El segundo nivel de organización en la proteína es la **estructura secundaria** que hace referencia a cierta configuración local en un segmento de la cadena principal; cierto tipo de estructuras están presentes en todas las proteínas: estructuras tipo espiral (alfa hélices) y otras más delgadas como varillas (hojas beta plegadas). Las alfa hélices se forman como consecuencia de los enlaces de hidrógeno presentes en los péptidos, por lo que generalmente se representan como espirales, la

¹Enlace en el que participan dos amidas, las cuales a su vez resultan de la unión de una amina con un grupo acilo: derivados del amoniaco + grupo carboxilo, que es básicamente la definición de un aminoácido. Cuando dos amidas se unen se denomina enlace amida, sin embargo en el caso particular cuando éstas amidas son aminoácidos el mismo enlace se denomina peptídico.

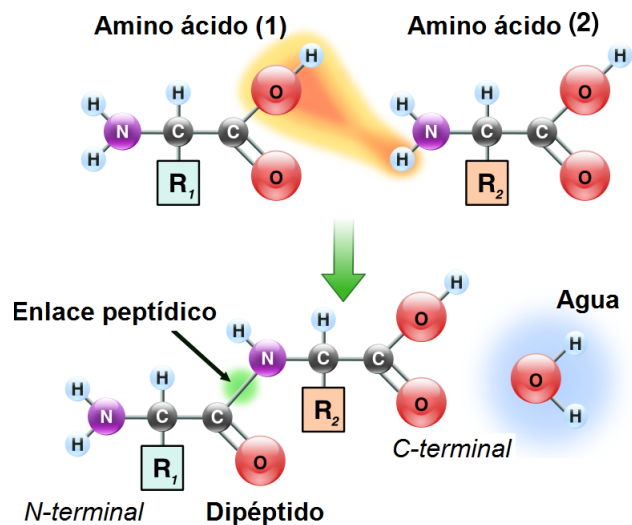


Figura 1.2: Enlace peptídico entre dos aminoácidos

estabilidad de estas espirales depende de la secuencia de aminoácidos por la que esté conformada. Por otro lado, las hojas beta se forman cuando una parte de la cadena interactúa con otra porción de la cadena de aminoácidos y generalmente se representan por flechas que por convención van del grupo amino al extremo carboxilo de los aminoácidos que interactúan. En resumen, la estructura secundaria tiene que ver con el arreglo local debido a interacciones de corto alcance.

Una forma más detallada de visualizar la estructura de la proteína es viendo su esqueleto o cadena principal (lo que sería lo análogo a los huesos sin tejidos ni carne en el cuerpo humano). El arreglo de este esqueleto en el espacio se conoce como **estructura terciaria**, es decir, la configuración tridimensional de todos los átomos, las espirales (alfa hélices) y las varillas (hojas beta plegables). Este nivel de organización toma en cuenta interacciones de largo alcance, que determina ciertos dobleces o giros de acuerdo a los residuos de otros aminoácidos ubicados en diferentes regiones de la cadena. En el mundo de las proteínas se ha encontrado que solo existe un número limitado de esqueletos (~ 1200) mientras que se conoce la estructura de más de 11 500 proteínas diferentes; el 10% de ellas son enzimas, las cuales catalizan reacciones muy diferentes, y sin embargo comparten el mismo plegamiento que una enzima llamada TIM (enzima trifosfato isomerasa), es decir, aproximadamente 1100 enzimas con funciones diferentes tienen la misma estructura terciaria [1].

En el último nivel de organización encontramos que varias de las proteínas están formadas por dos entidades proteicas o subunidades², a las cuales también se les llama monómeros, que en la mayoría de los casos son idénticos y dan lugar a dímeros, trímeros, etc., pero también es posible encontrar combinaciones de monómeros diferentes: heterodímeros, heterotetrámeros, entre otras configuraciones. Al arreglo de dos o más monómeros que se asocian juntos en la proteína se le conoce como **estructura cuaternaria** [1, 3, 4].

²Largas cadenas de aminoácidos.

1.2. Funciones de las proteínas

Gracias a la complejidad y diversidad de la estructura de las proteínas, éstas son capaces de realizar innumerables funciones en los organismos vivos, como se menciona de manera breve a continuación [1, 6]:

- Estructura de la célula: El citoesqueleto está formado por proteínas como la tubulina y la espectrina. La tubulina al ensamblarse entre sí da lugar a uno de los principales componentes del citoesqueleto: los microtúbulos.
- Transporte intracelular: Las llamadas proteínas membranales (integrales y periféricas) se han especializado a lo largo de los años en el transporte de iones y moléculas entre dos compartimientos intracelulares o también del exterior al interior de la célula y viceversa. Aunque estas proteínas transportadoras residan dentro de la misma célula, su estructura es notablemente diferente a otras proteínas debido a la necesidad de transportar diferentes iones o moléculas. Como ejemplos tenemos a las proteínas motoras: cinesina, miosina y dineína.
- Ataque y defensa: También a este nivel celular existen agresiones entre agentes vivos, por lo cual es necesario desarrollar mecanismos de defensa. Como ejemplo de proteínas defensoras tenemos a los anticuerpos, conformados por linfocitos que se encargan de interactuar con los antígenos, y los interferones, que interfieren la replicación de los virus en las células hospedadoras. También hay otras proteínas que intervienen en el ataque de manera *involuntaria* al verse afectadas por la presencia de bacterias como es el caso de la *bacillus anthracis*, una proteína contagiada por esta bacteria deja de realizar sus funciones y se convierte en una enzima que se encarga de cortar a otro tipo de enzimas llamadas cinasas, las cuales son esenciales para realizar la homeostasis del cuerpo humano³.
- Enzimas: Quizá ésta sea la función más abundante de las proteínas. Las enzimas se encargan de catalizar las reacciones químicas en la mayoría de los seres vivos, las cuales tienen una gran diversidad en tamaño y complejidad dependiendo de la reacción que catalizan. Para realizar su función muchas enzimas siguen las leyes de la física que nosotros conocemos macroscópicamente, por ejemplo, para atraer un sustrato de carga negativa muchas enzimas tienen regiones de carga negativa que dirigen el movimiento del sustrato a una región de cargas positivas conocido como sitio activo, que es el lugar donde se realiza la reacción química. Algunas de ellas aíslan el sustrato después de la interacción con la enzima con el fin de modificarlo. Todo esto es posible gracias a la *flexibilidad* de las proteínas que les permite llevar a cabo cambios conformacionales, es decir, cambios en su estructura [7].

1.3. Citoesqueleto

Una de las funciones de las proteínas es dar soporte y forma al citoplasma de la célula, y es el citoesqueleto el encargado de esta tarea, el cual básicamente está formado por tres clases de elementos: microfilamentos, filamentos intermedios y microtúbulos.

Cuando se comenzó a estudiar acerca de las estructuras y organelos presentes en el interior de la célula no se diferenciaba entre estas tres estructuras, sino que solo se conocían dos: los

³Una propiedad de los organismos que consiste en regular constantemente la condición interna del cuerpo compensando los cambios que ocurren en su entorno.

microtúbulos y los microfilamentos, diferenciando ambos por sus dimensiones y la forma tubular de los primeros. Con estudios posteriores se descubrió que los filamentos intermedios en realidad incluían una gran cantidad de estructuras diferentes. Con el microscopio electrónico se halló que la gran mayoría de las células contenían filamentos en su composición, y como primera aproximación se clasificó a los microfilamentos dependiendo del tipo celular en el que se encontraban: *tonofilamentos* en las células epiteliales, *neurofibrillas* en las neuronas, entre otras denominaciones. Fue gracias al desarrollo de nuevas técnicas que se ha podido dejar esa subcategoría primitiva clasificándolos de acuerdo a su estructura y función. El primer grupo está denominado como los *microfilamentos* que participan directamente en los movimientos celulares, aunque desempeñan otras funciones, tienen $6nm$ de diámetro y están constituidos básicamente por dos proteínas diferentes: la actina (proteína filamentososa que permite la actividad contráctil) y la miosina, el otro grupo de filamentos no participa directamente en el movimiento de la célula y se denominan *filamentos intermedios* por sus dimensiones de $8-10nm$, que son intermedias entre los microfilamentos y los microtúbulos. Estos tres componentes están distribuidos a lo largo del citoplasma, formando una compleja red entre ellos, y se encuentran tanto dispersos como formando cilios, flagelos y centriolos que son centros organizadores con funciones específicas [8].

1.3.1. Microtúbulo

Los microtúbulos son el principal componente citoesquelético de las células eucariotas, éstos son los más gruesos entre las tres clases de elementos que lo constituyen y están formados por dos unidades básicas, un par de monómeros llamados α tubulina y β tubulina los cuales se agrupan en un heterodímero, que a su vez se organizan en cadenas de varios micrómetros de longitud llamados protofilamentos. Al agruparse varios de estos protofilamentos se forma un cilindro de $22-24nm$ de sección transversal y hueco, estos cilindros son los microtúbulos y comúnmente tienen entre 9 y 14 protofilamentos dependiendo del tipo celular en cuestión. El hecho de que los microtúbulos estén constituidos por un heterodímero hace que éste posea una polaridad definida y es común denotar sus extremos como extremo *más* (+) y extremo *menos* (-) [8, 9].

Los microtúbulos no crecen de manera aleatoria dentro de la célula sino que, al ser una parte esencial que determina la estructura de la misma, crecen en *centros organizadores*, los cuales actúan como lugares de iniciación de la tubulogénesis (ensamblaje de tubulinas). Los microtúbulos crecen principalmente por su extremo (+) el cual se extiende hacia la periferia, mientras que el extremo (-) queda en contacto con el centro organizador.

Además de dar estructura, una de las funciones de los microtúbulos es servir como riel para cierto tipo de proteínas que se encargan de transportar diversos elementos en el interior de la célula, tal como la kinesina y la dineína, y se cree que la asimetría que posee en su estructura es lo que determina la unidireccionalidad del transporte para cierto tipo de proteínas motoras, Fig. (1.3).

1.4. Proteínas motoras

La capacidad de una célula para sostener tantos procesos específicos como la replicación de genes, transcripción, traducción, entre otros, de forma rápida y efectiva debe estar relacionada con un sistema de transporte altamente especializado que sea capaz de suministrar elementos necesarios en momentos específicos a lugares particulares de la célula. Este gran trabajo depende de manera importante de una clase de proteínas denominadas *proteínas motoras* o *motores moleculares*. Éstas

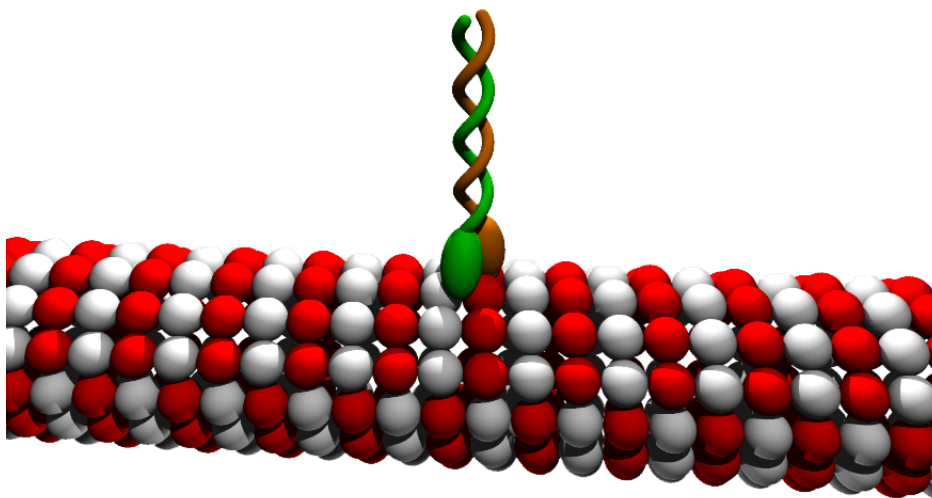


Figura 1.3: Representación gráfica del microtúbulo y la cinesina. El primero formado por dos clases de tubulinas (α y β), sobre el cual se desplaza una proteína de dos cabezas globulares.

son pequeñas máquinas biológicas responsables de la mayoría de las formas de movimiento que encontramos a nivel celular [10].

Varios estudios han identificado básicamente tres tipos de moléculas como las principales protagonistas del transporte intracelular: miosina, dineína y cinesina, las cuales trabajan convirtiendo la energía química obtenida de la hidrólisis del ATP. El diseño modular de los motores moleculares se puede subdividir básicamente en tres estructuras principales: dominio globular cabeza (o motor), dominio de unión (cadena ligera) y dominio cola. Estas tres subestructuras les proporcionan una complejidad considerable por lo que, en realidad, cada una de los tres tipos de motores moleculares forman una superfamilia, cuyos miembros pueden variar en estructura y función. Estas familias están definidas por la similitud en la secuencia de aminoácidos en el dominio del motor, generalmente las proteínas dentro de cada familia comparten aproximadamente 50 % de su secuencia de aminoácidos dentro de sus dominios globulares, el otro 50 % de aminoácidos hace que cambie la estructura o la función entre cada miembro de la familia [11].

Para la cinesina, esta superfamilia cuenta con al menos 600 secuencias de una gran variedad de especies, debido a la gran cantidad de cinesinas y a la necesidad de nombrarlas y clasificarlas, se ha establecido una nomenclatura que las subdivide en 14 familias. La gran diversidad se debe principalmente al tipo de organismo o de tipo de tejido al cual pertenezca la célula en cuestión.

La gran diversidad en la estructura y función de las proteínas motoras llevan a plantearse diferentes incógnitas acerca del funcionamiento de estos motores. Por ejemplo, los miembros “originales” de las familia de las miosinas y cinesinas poseen dos cabezas globulares, sin embargo, estudios recientes han hallado miembros de estas familias con una sola cabeza globular, y por si fuera poco, se han hallado miembros de la familia de la dineína que llegan a tener una, dos o incluso hasta tres cabezas globulares. Algunas de las cuestiones que aparecen es cómo determinar la velocidad y la dirección de desplazamiento de los motores moleculares; mientras que en unas proteínas el movimiento es unidireccional, otros miembros de la misma familia viajan en el sentido opuesto, o incluso algunos llegan a viajar en ambas direcciones. El rango de velocidades a la cual

éstos se desplazan también llega a ser muy amplio dentro de los miembros de la misma familia [11].

Existe otra categoría en la que los motores moleculares se clasifican: en la primera, las proteínas motoras pueden moverse a lo largo de un camino y atravesar grandes distancias sin separarse de su riel y son denominados *motores procesivos*. En el segundo comportamiento los motores moleculares pierden contacto con su riel o camino, frecuentemente después de un ciclo⁴, y a estas proteínas se les denomina *motores no procesivos*. Esto determina el número de elementos que participan y las diferentes formas de transporte, los motores procesivos, en general, actúan de forma individual, mientras que los motores no procesivos trabajan en equipo; los primeros permanecen en su camino tanto como sea posible, mientras que los últimos están optimizados para interacciones colectivas, “rápidas y breves”.

Algo que tienen en común estos motores moleculares es que son considerados ATPasas, es decir, son enzimas capaces de efectuar la hidrólisis del ATP, reacción química que libera un fosfato del ATP convirtiéndose en un ADP y una molécula de fósforo inorgánico P_i , como mecanismo para obtener energía:



En general, la *dineína* participa en la endocitosis, la cual corresponde al transporte hacia adentro de la célula: introducir nutrientes, combustible para crecer, reconstruir o reproducirse; la *cinesina* participa en la exocitosis, es decir, participa en el tráfico hacia afuera de la célula: desechos, enviar señales hacia otras células, activar funciones. Mientras que la *dineína* y la *cinesina* tienen una única dirección de trabajo, la *miosina* puede participar en ambos procesos [9].

El interés en los motores moleculares es que estos son capaces de aprovechar la energía química para llevar a cabo un trabajo mecánico, por lo que un correcto funcionamiento de estos corresponde a un buen funcionamiento del organismo [7], y además son un gran desafío para la física, ya que se mueven en forma unidireccional a pesar de estar bajo la influencia de fuerzas con promedio cero. Es por ello que, con el fin de entenderlos, los físicos han estudiado modelos de motores brownianos, los cuales tienen características comunes: generan transporte en presencia de fuerzas de promedio cero y en presencia de fluctuaciones térmicas, de lo cual hablaremos más adelante [2, 12].

1.4.1. Cinesina

Debido a la complejidad y variedad dentro de las proteínas motoras nosotros trabajaremos solo con una subcategoría de la superfamilia de la Cinesina: la Cinesina *I* (o cinesina convencional), que de ahora en adelante nos referiremos a ella simplemente como *cinesina*.

La cinesina se encarga de transportar sustancias dentro de las células y se mueve a lo largo de un sistema de rieles dentro de la misma: el microtúbulo. Su peso es aproximadamente de 380 kDa y tiene un tamaño aproximado de $7 \times 4.5 \times 4.5 \text{ nm}^3$. Está constituida por dos cadenas pesadas, las cuales se entrecruzan en hélice y forman dos cabezas globulares, y dos cadenas ligeras que se encuentran en la cola y terminan en forma expandida, Fig. (1.4). La cinesina se une al microtúbulo por el extremo globular, mientras que la cola se encarga de unirse a las vesículas a transportar, Fig. (1.3). Se sabe que la cinesina, junto con las vesículas conectadas a ellas, viajan desde los centros organizadores de microtúbulos, cercanos al complejo de Golgi, hasta la membrana plasmática, es decir, se mueven hacia el extremo (+) del microtúbulo, realizando así un transporte unidireccional

⁴Los motores moleculares se pueden modelar por un cierto número de pasos que, repitiéndose periódicamente, dan lugar a ciclos, tal como el concepto de motor que usamos cotidianamente.

hacia la periferia de la célula: de cierta forma podemos decir que éstas son capaces de *reconocer* la polaridad y organización de su camino, el cual determina su dirección de transporte [1, 8].

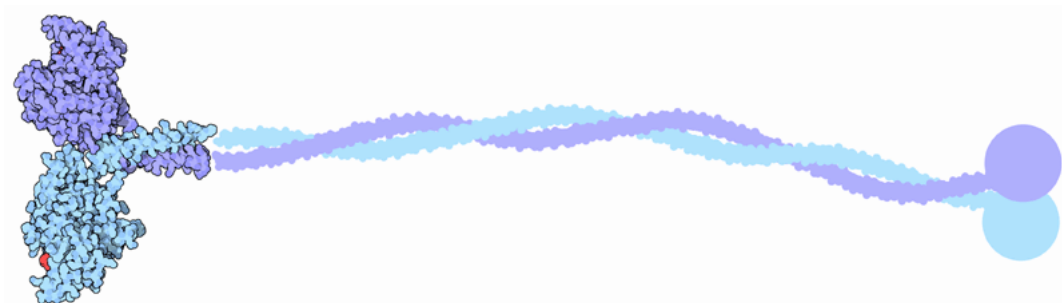


Figura 1.4: Estructura de la cinesina que exhibe las dos cabezas globulares, dos cadenas ligeras, y el dominio cola (de izquierda a derecha).

La cinesina también funge como ATPasas, y precisamente las cabezas globulares llevan a cabo esta función, sirviendo como centros catalíticos que se unen a los microtúbulos y a las moléculas de ATP y ADP. Ambas cabezas se unen por medio de un *cuello enlazador*, un elemento mecánico que, se cree, es el responsable del movimiento de la cinesina, ya que sufre cambios conformacionales en presencia de ATP que permite llevar a cabo los pasos del motor molecular [13]. Para dar varios pasos consecutivos sin llegar a disociarse a lo largo del microtúbulo, ambas cabezas deben operar de manera coordinada de forma que al menos una cabeza esté enlazada al microtúbulo en cualquier paso del ciclo de trabajo, sin embargo el mecanismo mediante el cual se lleva a cabo este proceso aún está en discusión [14, 15].

1.4.2. Estudios sobre la cinesina

Son varios resultados los que nos han llevado a comprender y proponer la forma en la que la cinesina trabaja, en esta sección mostraremos brevemente algunos de los estudios que se han hecho y que nos ayudarán más adelante para crear y discutir diversos modelos matemáticos que tengan un fuerte respaldo de forma experimental. Cabe destacar que la primera proteína motora que se descubrió fue una clase de miosina en 1957 por H. E. Huxley *et al.*, sin embargo, los primeros estudios de la cinesina datan alrededor del año 1990 [11]; mientras algunos autores trataban de describir su estructura, otros intentaban describir su mecanismo de trabajo.

La estructura atómica de la cinesina fue obtenida por medio de cristalografía de rayos X, revelando la estructura básica conocida hoy en día. En estos estudios se hallaron ranuras de anclaje para nucleótidos (sitios activos), lo que llevó a pensar en la hidrólisis del ATP como fuente de energía. Para comprobar este hecho se prepararon soluciones con cinesinas y microtúbulos y lo que se halló es que en presencia de una concentración de ATP las cinesinas avanzaban, mientras que para una concentración determinada las cinesinas permanecían inmóviles.

Tomando como base la hidrólisis del ATP, se procedió a observar en que parte del ciclo se utilizaba la energía suministrada por esta reacción química. Mediante la técnica conocida como *Cryoelectron microscopy*⁵ se prepararon muestras de microtúbulos acoplados a cinesinas, teniendo una cabeza acoplada al microtúbulo y una cabeza suelta; en la presencia de un tipo de ATP no

⁵Estudio realizado mediante la técnica de microscopio electrónico de transmisión (TEM) en el cual las muestras están a temperaturas bajas, cercanas a las del nitrógeno líquido.

hidrolizable (AMP-PNP), se observó que al unirse esta molécula a las cinesinas se producía un cambio conformacional “grande”, que llevaba la cabeza de la cinesina que no estaba unida de un extremo a otro respecto a la cabeza enlazada al microtúbulo (Hackney, 1994; Gilbert *et al.*, 1998) [11]. Esto llevó a la conclusión de que el simple hecho de que el nucleótido se uniera al sitio activo de la cinesina daba lugar a un cambio conformacional en la cabeza que no estaba unida al microtúbulo.

Tiempo después se descubrió que las cinesinas no solo tienen afinidad por moléculas de ATP, sino también por moléculas de ADP. Estudios sobre una sola molécula⁶ han mostrado que los complejos cinesina y cinesina-ATP se desenlazan muy lentamente del microtúbulo, mientras que los complejos cinesina-ADP-fosfato y cinesina-ADP se desenlazan *más rápido* [11], lo que sugiere un ciclo en el cual la hidrólisis del ATP da lugar a la separación de las cabezas cinesinas del microtúbulo. Por otro lado en ausencia de microtúbulos la liberación de ADP por parte de la cinesina es muy lenta, lo cual a su vez limita la tasa de hidrólisis de ATP llevada a cabo por la misma, lo que evidenció que en realidad la cinesina tiene una gran afinidad por ADP y en contraste una poca afinidad por ATP; en presencia de microtúbulos la actividad enzimática con el ATP se incrementa unas 5000 veces, lo cual a su vez nos muestra que la liberación de ADP también se ve aumentada por el mismo factor.

En otras palabras, la cinesina por sí misma no tiene mucha afinidad al ATP, sin embargo, cuando la cinesina se une al microtúbulo este nuevo complejo es el que posee una gran afinidad por este nucleótido, y de hecho, en presencia de ATP la cinesina y el microtúbulo permanecen *fuertemente* ligados; por otro lado la unión de la cinesina al microtúbulo favorece la liberación de una molécula de ADP, mientras que es necesaria la hidrólisis del ATP para desanclarse del microtúbulo, se requiere la liberación de una molécula de ADP para la unión al microtúbulo.

A su vez, estos experimentos muestran que el ciclo químico y el ciclo mecánico están unidos, de forma que un paso químico (la unión de una molécula de ATP a la *cabeza uno*) cataliza un paso mecánico (la unión de la *cabeza dos* al microtúbulo), que cataliza un paso químico (la liberación del ADP de la cabeza dos), el cual cataliza un paso mecánico (la liberación de la cabeza uno del microtúbulo).

También se han hecho experimentos para medir la trayectoria típica de estos motores, a través de una trampa óptica se fijó la cabeza de la cinesina a una pequeña carga, con lo que se pudo grabar el movimiento de la cinesina sobre un microtúbulo que permanecía inmóvil, hallando los primeros indicios de la cinesina como un motor procesivo: una cinesina lograba una sola trayectoria de cientos de nanómetros mientras cargaban un peso de algunos piconewtons [16]. Este experimento también evidenció pasos individuales de aproximadamente $8nm$. Por otro lado se mostró que la *tasa de acoplamiento mecanoquímico*, que relaciona el número de moléculas de ATP hidrolizadas a la distancia recorrida durante un ciclo del motor, era independiente de la concentración de ATP, es decir, hay una molécula de ATP hidrolizada por cada $8nm$ de recorrido, Fig. (1.5).

Experimentos bioquímicos también muestran que la cinesina es un motor procesivo: por un lado la cinesina hidroliza alrededor de 125 moléculas de ATP desde su primer enlace con el microtúbulo hasta su desanclaje, y por otro lado se ha encontrado que la cinesina da un promedio de 125 pasos de $8 nm$ antes de disociarse, es decir un paso por cada ATP hidrolizado. Experimentos de motilidad molecular⁷ en las cinesinas reafirman este hecho. Se ha mostrado que la velocidad de la

⁶Single molecule assay.

⁷*Gliding assay*: los motores se fijan a una superficie mientras que se permiten a los microtúbulos moverse libremente.

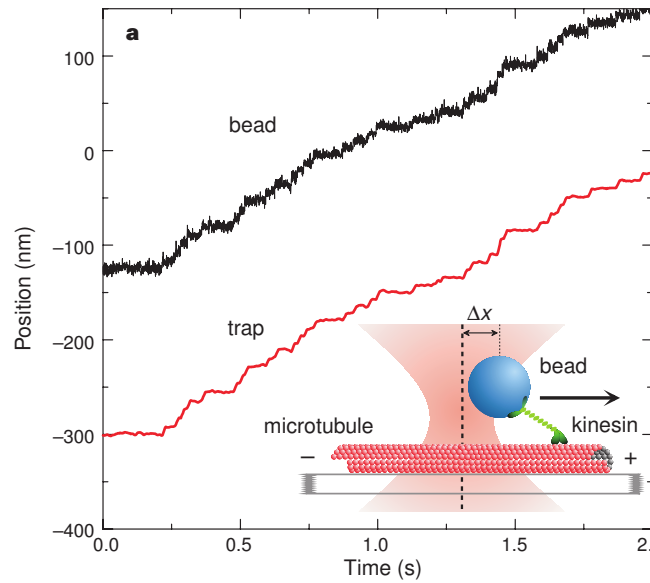


Figura 1.5: Experimento de pinzas ópticas que revela pasos discretos de 8nm de longitud para una kinesina sujeta a una fuerza de 6.5pN . Tomado del original de Vissher *et al.*, 1999 [2, 11, 16].

cinesina es independiente de la densidad de la misma: un motor puede mover un microtúbulo a la misma rapidez a la que lo harían 100 motores, y además la rapidez es independiente de la longitud del microtúbulo. Al contrario de algunos tipos de miosina (motores no procesivos) en los que la velocidad de los filamentos transportados depende de la concentración de miosinas que participen en el proceso.

También se ha determinado la dependencia de la velocidad de la kinesina en función de la concentración de ATP, generalmente la cinética enzimática presenta una cinética de saturación, lo que nos permite describir este mecanismo mediante el modelo de Michaelis-Menten.

Ya que la kinesina es una proteína bicéfala se han propuesto dos modelos para describir la manera en que la kinesina se desplaza a lo largo del microtúbulo: el modelo *hand-over-hand* en el cual ambas cabezas se van alternando en cada ciclo, lo que sería análogo a un caminante bípedo, y el modelo *inchworm* en el cual una cabeza siempre va al frente, mientras que la segunda la alcanza, pero no la llega a rebasar [11, 15].

Con estos resultados hallados en la literatura podemos hacer una serie de conjeturas que nos permitirán crear más adelante un modelo que describa de la mejor manera el sistema de estudio. Para nuestro trabajo se analizará un modelo que sugiere el *hand-over-hand* como método de desplazamiento de la kinesina.

Capítulo 2

Sistemas fuera de equilibrio

Los sistemas biológicos, como las proteínas, se consideran sistemas abiertos ya que pueden llegar a intercambiar tanto energía como materia con sus alrededores. A pesar de la complejidad que estos sistemas puedan tener, la termodinámica irreversible nos provee las herramientas matemáticas para describir el comportamiento macroscópico de este tipo de sistemas, a través de variables *locales* como lo son la densidad de energía y la densidad de entropía. Por ello, en este capítulo presentaremos algunas de las formulaciones de la termodinámica para sistemas fuera de equilibrio que, a su vez, nos permitirá introducir el lenguaje necesario para modelar los procesos bioquímicos que ocurren en el interior de estos sistemas.

El primer paso para describir un sistema termodinámicamente es definir su frontera y sus alrededores, además del tipo de frontera que los divide, de forma que quede bien definido la forma en la que el sistema interactúa con sus alrededores. La *termodinámica clásica* nos permite describir el estado del sistema cuando éste ha alcanzado un equilibrio térmico de forma que, a través de variables macroscópicas, podemos describir completamente el estado del sistema. Estas variables se dividen en dos: extensivas, que dependen del *tamaño* del sistema, e intensivas que no dependen del tamaño del mismo.

En este contexto los sistemas biológicos son considerados sistemas abiertos, ya que llegan a intercambiar tanto materia como energía con su exterior, de forma que el equilibrio termodinámico, el estado en el que las variables macroscópicas son independientes del tiempo, generalmente no es alcanzado¹ y las variables termodinámicas no tienen un valor uniforme a lo largo del sistema. Para estos casos la descripción del sistema se puede hacer a través de variables termodinámicas *locales*; las variables intensivas que llegan a ser funciones de la posición y del tiempo [17, 18]:

$$T = T(x, t) \quad p = p(x, t) \quad \mu = \mu(x, t), \quad (2.1)$$

mientras que las variables extensivas son remplazadas por *densidades* de las variables termodinámicas:

- $s(x, t)$: entropía por unidad de volumen.
- $u(x, t)$: energía por unidad de volumen.
- $n_k(x, t)$: número de moles de la especie k por unidad de volumen.

¹Se alcanza para tiempos muy largos.

CAPÍTULO 2. SISTEMAS FUERA DE EQUILIBRIO
2.1. PRODUCCIÓN LOCAL DE ENTROPÍA

Por lo que las leyes de conservación de la termodinámica clásica deben de ser reescritas de manera adecuada tomando en cuenta estas consideraciones.

2.1. Producción local de entropía

El cambio en la entropía total del sistema puede dividirse en dos contribuciones:

$$dS = d_e S + d_i S, \quad (2.2)$$

donde $d_e S$ es la entropía entregada al sistema por sus alrededores y $d_i S$ es la entropía generada dentro del sistema debido a procesos irreversibles y cumple que $d_i S \geq 0$. En términos de las variables locales, asignadas a un *pequeño* elemento de volumen podemos escribir:

$$S = \int^V \rho s dV, \quad (2.3)$$

$$\frac{d_e S}{dt} = - \int^V \nabla \cdot \vec{J}_{s,tot} dV, \quad (2.4)$$

$$\frac{d_i S}{dt} = \int^V \sigma dV, \quad (2.5)$$

donde $\vec{J}_{s,tot}$ representa el flujo total de entropía por unidad de área y por unidad de tiempo, mientras que σ representa la producción de entropía por unidad de volumen y por unidad de tiempo. Al sustituir las ecuaciones (2.3)-(2.5) en la expresión para la producción total de entropía obtenemos:

$$\int^V \left(\frac{\partial \rho s}{\partial t} + \nabla \cdot \vec{J}_{s,tot} - \sigma \right) dV = 0. \quad (2.6)$$

La relación anterior debe cumplirse para cualquier volumen arbitrario, por lo que

$$\frac{\partial \rho s}{\partial t} = -\nabla \cdot \vec{J}_{s,tot} + \sigma, \quad \sigma \geq 0. \quad (2.7)$$

En el contexto de la termodinámica fuera de equilibrio es conveniente definir el operador de la derivada material:

$$\frac{D}{Dt} = \frac{\partial}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla, \quad (2.8)$$

de forma que la ecuación (2.7) puede ser reescrita como:

$$\rho \frac{Ds}{Dt} = -\nabla \cdot \vec{J}_s + \sigma, \quad (2.9)$$

que es la ecuación de balance de entropía, siendo \vec{J}_s la diferencia entre el flujo total de entropía y una parte convectiva:

$$\vec{J}_s = \vec{J}_{s,tot} - \rho s \vec{v}. \quad (2.10)$$

Por otro lado, la densidad de entropía se relaciona con la energía interna a través de la ecuación fundamental de la termodinámica:

$$T ds = du + p dv - \sum_{k=1}^n \mu_k dc_k, \quad (2.11)$$

CAPÍTULO 2. SISTEMAS FUERA DE EQUILIBRIO
2.2. REACCIONES QUÍMICAS

siendo p la presión en equilibrio y μ_k el potencial químico de la k -ésima componente. Esta ecuación es válida porque, aunque el sistema no se encuentra en equilibrio global, existen pequeños elementos de volumen que se encuentran en equilibrio local, para los cuales la entropía es una función bien definida en sus variables termodinámicas y se cumple la relación dada por la ecuación (2.11). En término de la derivada material, podemos describir el sistema siguiéndolo en su *centro de gravedad*:

$$T \frac{Ds}{Dt} = \frac{Du}{Dt} + p \frac{Dv}{Dt} - \sum_{k=1}^n \mu_k \frac{Dc_k}{Dt}. \quad (2.12)$$

Para conocer la forma explícita de la producción local de entropía es necesario introducir las ecuaciones de balance para la energía u , el volumen específico $v = 1/\rho$, y el cambio en la fracción de masa c_k , las cuales se pueden hallar en el apéndice A, dando como resultado la siguiente expresión:

$$\rho \frac{Ds}{Dt} = -\frac{\nabla \cdot \vec{J}_q}{T} - \frac{1}{T} \square : \nabla \vec{v} + \frac{1}{T} \sum_{k=1}^n \vec{J}_k \cdot \vec{F}_k + \frac{1}{T} \sum_{k=1}^n \mu_k \nabla \cdot \vec{J}_k - \frac{1}{T} \sum_{j=1}^r J_j A_j, \quad (2.13)$$

donde se ha definido a la afinidad química como:

$$A_j = \sum_{k=1}^n \nu_{kj} \mu_k, \quad j = \overline{1, n}, \quad (2.14)$$

que es la fuerza que indica la dirección en la que se llevarán a cabo las reacciones químicas. Note que la ecuación (2.13) puede escribirse si reagrupamos algunos términos:

$$\rho \frac{Ds}{Dt} = -\nabla \cdot \left(\frac{\vec{J}_q - \sum_k \mu_k \vec{J}_k}{T} \right) - \frac{1}{T^2} \vec{J}_q \cdot \nabla T - \frac{1}{T} \sum_{k=1}^n \vec{J}_k \cdot \left[T \nabla \left(\frac{\mu_k}{T} \right) - \vec{F}_k \right] - \frac{1}{T} \square : \nabla \vec{v} - \frac{1}{T} \sum_{j=1}^r J_j A_j, \quad (2.15)$$

de forma que, al comparar con la ecuación de balance de entropía, ecuación (2.9), podemos identificar el término asociado a la densidad de producción de entropía:

$$\sigma = -\frac{1}{T^2} \vec{J}_q \cdot \nabla T - \frac{1}{T} \sum_{k=1}^n \vec{J}_k \cdot \left(T \nabla \frac{\mu_k}{T} - \vec{F}_k \right) - \frac{1}{T} \square : \nabla \vec{v} - \frac{1}{T} \sum_{j=1}^r J_j A_j, \quad (2.16)$$

donde a su vez, puede identificarse la densidad de producción de entropía debido a las reacciones químicas:

$$\sigma_{quim} = -\frac{1}{T} \sum_{j=1}^r J_j A_j. \quad (2.17)$$

2.2. Reacciones químicas

Para comprender mejor el concepto de afinidad química consideremos el siguiente planteamiento. Un esquema general de una reacción química se denota de la siguiente manera:



siendo ν_{ij} los coeficientes estequiométricos de la reacción y n_i el número de moles de la i -ésima especie química. Por convención el lado izquierdo denota a los reactivos y el lado derecho de

CAPÍTULO 2. SISTEMAS FUERA DE EQUILIBRIO
2.2. REACCIONES QUÍMICAS

la ecuación denota a los productos. De la relación de Gibbs-Duhem, a temperatura y presión constante sabemos que, en equilibrio, la energía libre de Gibbs se minimiza de acuerdo con la siguiente expresión:

$$dG = \sum_{i=1}^r \mu_i dn_i = 0. \quad (2.19)$$

En este caso, el cambio en el número de moles de cada especie se relaciona con los otros por medio del grado de avance de la reacción:

$$dn_i = -\nu_{ij} d\xi_j, \quad (2.20)$$

el cual nos indica como disminuye la concentración de la i -ésima especie química en proporción con sus coeficientes estequiométricos para la j -ésima reacción. Por lo que podemos reescribir la ecuación de Gibbs-Duhem como:

$$\sum_{i=1}^r \mu_i \nu_{ij} d\xi_j = 0, \quad (2.21)$$

note que las variaciones de $d\xi_j$ son arbitrarias, por lo que:

$$\sum_{i=1}^r \mu_i \nu_{ij} = 0. \quad (2.22)$$

Esta última expresión se puede reescribir expresando de manera explícita los reactivos ν_{ij} y los productos ν'_{ij} :

$$\sum_{i=1}^r (\nu_{ij} - \nu'_{ij}) \mu_i = 0. \quad (2.23)$$

de donde se obtiene de forma natural la expresión para la afinidad química de la reacción:

$$A_j \equiv \sum_{i=1}^r (\nu_{ij} - \nu'_{ij}) \mu_i = 0, \quad (2.24)$$

que en este caso es cero porque partimos del hecho de que $dG = 0$, es decir, la reacción química no es favorable en ningún sentido. Para el caso general, podemos escribir la afinidad química como:

$$A_j \equiv \sum_{i=1}^r (\nu_{ij} - \nu'_{ij}) \mu_i, \quad (2.25)$$

y es por ello que la interpretación de la afinidad química es determinar el sentido en el que ocurrirán las reacciones, y si estas ocurrirán o no. Tomando en cuenta que para sistemas cercanos al equilibrio podemos expresar una relación lineal entre los flujos y las fuerzas termodinámicas, mediante los conocidos coeficientes fenomenológicos de Onsager, podemos proponer la relación [18]

$$J_j = k_j A_j, \quad (2.26)$$

De Donder define la afinidad química de forma que J_j pueda ser expresado como el producto entre un flujo y una fuerza termodinámica, es decir, es fuerza relacionada con la afinidad química da lugar a un flujo termodinámico[17]. Si suponemos que la sustancias involucradas en la reacción se comportan de manera ideal, el potencial químico se puede expresar de la siguiente manera:

$$\mu_i = RT \ln \left(\frac{n^i}{n_{eq}^i} \right). \quad (2.27)$$

CAPÍTULO 2. SISTEMAS FUERA DE EQUILIBRIO
2.2. REACCIONES QUÍMICAS

Si sustituimos las ecuaciones (2.24) y (2.27) dentro de la ecuación (2.26), y utilizando las propiedades de la función logaritmo que el flujo termodinámico se puede expresar como:

$$J_j = k_j RT \left\{ \ln \left[\prod_i^r \left(\frac{n_i}{n_{eq}^i} \right)^{\nu_{ij}} \right] - \ln \left[\prod_i^r \left(\frac{n_i}{n_{eq}^i} \right)^{\nu'_{ij}} \right] \right\}, \quad (2.28)$$

si ahora aproximamos la función logaritmo mediante la serie de Taylor por $\ln(x) \approx x - 1$, tenemos:

$$J_j = k_j RT \left[\prod_i^r \left(\frac{n_i}{n_{eq}^i} \right)^{\nu_{ij}} - \prod_i^r \left(\frac{n_i}{n_{eq}^i} \right)^{\nu'_{ij}} \right]. \quad (2.29)$$

Note que los productos de n_i^{eq} junto con RT tienen un valor constante, por lo que podemos definir nuevas constantes que contengan estos términos:

$$k_+ = k_j RT \prod_i^r (n_i^{eq})^{-\nu_{ij}}, \quad (2.30)$$

$$k_- = k_j RT \prod_i^{r'} (n_i^{eq})^{-\nu'_{ij}}, \quad (2.31)$$

y precisamente, al hacer la razón entre ambas constantes obtenemos la constante de equilibrio de la reacción química:

$$K(T, p) \equiv \frac{k_+}{k_-} = \frac{\prod_i^{r'} (n_i^{eq})^{-\nu'_{ij}}}{\prod_i^r (n_i^{eq})^{-\nu_{ij}}}, \quad (2.32)$$

por ello podemos interpretar estas constantes como las constantes de velocidad para los reactivos k_+ y los productos k_- . Finalmente al sustituir estas expresiones dentro de la Ec. (2.29), obtenemos:

$$J_j = k_+ \prod_i^r (n_i)^{\nu_{ij}} - k_- \prod_i^{r'} (n_i)^{\nu'_{ij}}. \quad (2.33)$$

Esta definición conduce a la Ley de Acción de Masas, a saber:

$$J_j \equiv \frac{d\xi_j}{dt} = -\frac{1}{\nu_{ij}} \frac{dn_i}{dt} = k_+ \prod_i^r (n_i)^{\nu_{ij}} - k_- \prod_i^{r'} (n_i)^{\nu'_{ij}}. \quad (2.34)$$

La ecuación (2.33) es muy importante, y se puede aplicar para estudiar la cinética química, la cual nos permite conocer la velocidad de reacción ω_j en función de las concentraciones molares de las especies químicas. Debido a las unidades que tienen las constantes de velocidad k_+ y k_- , es convenientes expresar la ecuación (2.33) en término de las concentraciones de las especies químicas y no solo de las fracciones molares, de esta forma la ecuación de velocidad toma dimensiones apropiadas y queda expresada como:

$$\omega_j = -\frac{1}{\nu_{ij}} \frac{d[N_i]}{dt} = k_+ \prod_i^r [N_i]^{\nu_{ij}} - k_- \prod_i^{r'} [N_i]^{\nu'_{ij}}. \quad (2.35)$$

2.2.1. Orden de la reacción

De forma experimental se puede determinar una relación que modele como cambia la concentración de los productos y reactivos en función del tiempo, y de manera teórica esta relación se puede conocer a través de la ecuación (2.35), la cual es válida para la mayoría de los casos. Comencemos por la reacción química más simple:

CAPÍTULO 2. SISTEMAS FUERA DE EQUILIBRIO
2.2. REACCIONES QUÍMICAS



La ecuación de velocidad asociada es:

$$\omega = k[A], \quad (2.37)$$

y la ecuación diferencial que modela el cambio de concentración en función del tiempo está descrita por una disminución en la concentración de $[A]$ ya que ésta se convierte en $[B]$ conforme avanza el tiempo de la reacción:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A]. \quad (2.38)$$

La ecuación anterior muestra una dependencia lineal entre el cambio de la concentración con la concentración misma, por ello se dice que la constante de velocidad es de *primer orden*. La ecuación anterior tiene por solución una función exponencial:

$$[A]_t = [A]_0 e^{-kt}. \quad (2.39)$$

Análogamente para $[B]$ tendríamos el siguiente comportamiento en el tiempo:

$$[B]_t = [A]_0 (1 - ke^{-kt}). \quad (2.40)$$

El siguiente caso corresponde a una reacción dimolecular, en la que dos especies químicas se transforman para dar lugar a un solo compuesto:



que nos lleva a la siguiente ecuación diferencial:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A][B]. \quad (2.42)$$

En término de concentraciones, podemos establecer que las magnitudes de $[A]$ y $[B]$ cambian de acuerdo al grado de avance de la reacción mostrado en la siguiente tabla:

Tiempo	[A]	[B]
0	[A] ₀	[B] ₀
t	[A] - x	[B] - x

Tabla 2.1: Concentración de los reactivos en función del tiempo

De esta forma, la ecuación anterior se puede reescribir como:

$$\frac{dx}{dt} = k ([A]_0 - x) ([B]_0 - x), \quad (2.43)$$

la cual se puede resolver mediante el método de integrales por fracciones parciales, llevando a la solución:

$$\frac{[B]_0 - x}{[A]_0 - x} = \frac{[B]_0}{[A]_0} \exp \{ ([B]_0 - [A]_0) kt \}. \quad (2.44)$$

2.2.2. Reacciones químicas complejas

Un mecanismo de reacciones hace referencia a la serie de pasos elementales intermedios que se llevan a cabo en la transformación de reactivos a productos. Para ello es esencial la participación de un intermediario, el cual se forma en un paso y se crea en otro. Por ejemplo, para el caso de un solo intermediario:



Por la presencia de un intermediario la cinética de las concentraciones de cada especie cambia notablemente. La ecuación de velocidad para $[A]$ se expresa como:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1[A], \quad (2.46)$$

lo cual nos podría llevar a pensar que el comportamiento es el mismo que para una reacción que se da en un solo paso, sin embargo no es así, como podemos notar al estudiar la evolución temporal de las demás concentraciones:

$$\frac{d[I]}{dt} = k_1[A] - k_2[I], \quad (2.47)$$

$$\frac{d[B]}{dt} = k_2[I]. \quad (2.48)$$

Al resolver el sistema de ecuaciones anterior usando la transformada de Laplace, se llega al siguiente resultado:

$$[A]_t = [A]_0 e^{-k_1 t}, \quad (2.49)$$

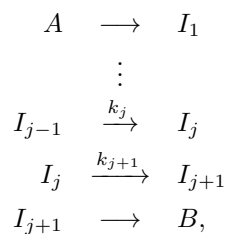
$$[B]_t = [A]_0 \left[1 + \frac{1}{k_2 - k_1} (k_1 e^{-k_2 t} - k_2 e^{-k_1 t}) \right], \quad (2.50)$$

$$[I]_t = [A]_0 \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}). \quad (2.51)$$

Podemos observar que el comportamiento ha cambiado notoriamente tan solo por la presencia de un intermediario.

2.2.3. Estado estacionario

En cinética química se dice que un estado es estacionario si en un mecanismo de reacciones sucede que la concentración de alguno de los intermediarios se mantiene constante en el tiempo que dura la reacción en llevarse a cabo. Supongamos que tenemos un mecanismo en el que existen $(j + 1)$ intermediarios y que el intermediario I_j se encuentra en un estado estacionario, o muy cercano a éste:



la ecuación para la concentración del intermediario I_j es:

$$\frac{d[I_j]}{dt} = k_j[I_j] - k_{j+1}[I_j], \quad (2.52)$$

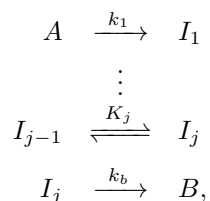
pero usando la aproximación al estado de equilibrio tenemos:

$$\frac{d[I_j]}{dt} = k_j[I_j] - k_{j+1}[I_j] \approx 0, \quad (2.53)$$

de manera que una ecuación diferencial se reduce a una ecuación algebraica, lo cual a su vez nos permite resolver las otras ecuaciones de manera más sencilla [9].

2.2.4. Aproximación al equilibrio químico

Cuando una reacción está en equilibrio o muy cerca del estado de equilibrio la afinidad química de dicha reacción es cero y la relación entre las especies involucradas en dicho proceso está determinada por la constante de equilibrio. Por ello, para un mecanismo de reacciones del tipo:



ya que el paso entre los intermediarios I_{j-1} e I_j está en equilibrio estacionario, se puede expresar uno en términos del otro a través de la constante de equilibrio:

$$[I_j] = K_j[I_{j-1}], \quad (2.54)$$

teniendo así una relación más simple que puede utilizarse en las otras ecuaciones de velocidad.

2.3. Catálisis enzimática

Como se mencionó en el primer capítulo, gran parte de las proteínas tienen el papel de enzimas, es decir, llevan a cabo reacciones químicas aumentando la rapidez de los procesos químicos en los sistemas vivos. Si además la concentración de este agente enzimático recupera su valor inicial al final de la reacción recibe el nombre de catalizador.

Las enzimas son proteínas que están presentes en todos los sistemas vivos, las cuales son muy importantes debido a su gran utilidad dentro del organismo, ya que ellas permiten la conversión de otros compuestos (sustratos) en productos útiles para alguna función particular dentro del organismo. En general, los sustratos son afines a un tipo específico de enzimas, sin embargo, las enzimas pueden ser afines a más de un sustrato. Para llevar a cabo la catálisis enzimática, la unión del sustrato con la enzima se lleva a cabo en un sitio específico denominado sitio activo, si la enzima es afín a más de un sustrato puede haber diferentes tipos de interacción dependiendo de diferentes factores, ya sea que la enzima posea más de un sitio activo o bien más de un sustrato sea afín al mismo sitio activo, de esta forma algunos sustratos pueden actuar como inhibidores para la catálisis de otros sustratos.

Los motores moleculares son enzimas que pueden catalizar reacciones relacionadas con la motilidad del motor, que funcionan con al menos dos sustratos: *ADP* y *ATP*. En este contexto, el *ADP* funciona como inhibidor del movimiento del motor basado en la reacción del *ATP* como sustrato.

2.3.1. Ley de Michaelis - Menten

Ya que las enzimas se encargan de realizar reacciones químicas dentro de los organismos, existe una manera de modelar este proceso a través de la cinética química. La catálisis enzimática más sencilla es descrita por un mecanismo conocido como el mecanismo de Michaelis-Menten (MM), que se puede escribir como:



donde la enzima E participa como catalizador de la reacción que transforma el sustrato S en el producto P , teniendo como paso intermedio una reacción reversible entre el sustrato y la enzima, que da lugar al complejo llamado enzima-sustrato ES . En 1925, George Briggs y John Haldane postularon que poco después de haber mezclado la enzima con el sustrato, la concentración del complejo enzima-sustrato alcanza un valor constante, de modo que se puede aplicar la aproximación al estado estable en las ecuaciones de la cinética química para ES [4]:

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES], \quad (2.56)$$

de donde se tiene que:

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES], \quad (2.57)$$

teniendo en cuenta que en cada instante de tiempo la concentración total de la enzima se puede escribir como:

$$[E] + [ES] \equiv [E]_0, \quad (2.58)$$

de esta forma podemos reescribir la ecuación anterior al sustituir la expresión para $[E]$ como

$$k_1([E]_0 - [ES])[S] = (k_{-1} + k_2)[ES], \quad (2.59)$$

de donde finalmente se puede despejar la concentración para el complejo enzima-sustrato como:

$$[ES] = \frac{k_1[E]_0[S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}. \quad (2.60)$$

Ahora conviene introducir los parámetros de MM,

$$\begin{aligned} K_M &= \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \\ V_{max} &= [E]_0 k_2. \end{aligned} \quad (2.61)$$

De esta forma, la rapidez inicial de la transformación del producto, se puede escribir como:

$$\omega = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}. \quad (2.62)$$

CAPÍTULO 2. SISTEMAS FUERA DE EQUILIBRIO
2.3. CATÁLISIS ENZIMÁTICA

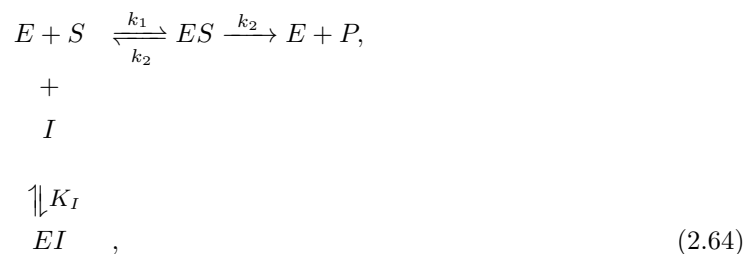
Esta ecuación tiene una forma hiperbólica al graficar S vs. v_0 , sin embargo al graficarla es muy difícil interpretar los parámetros de MM. Para ello, existe una representación análoga a la ecuación anterior, conocida como la representación de Lineweaver-Burk (L-B), que consiste en tomar los recíprocos de ambos lados de la ecuación (2.62), de modo que se puede escribir como [4, 9, 15]:

$$\frac{1}{\omega} = \frac{1}{V_{max}} \frac{K_M}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}, \quad (2.63)$$

la cual es lineal al graficar $\frac{1}{\omega}$ vs. $\frac{1}{[S]}$, donde el parámetro V_{max} se convierte en la ordenada al origen de la recta con pendiente K_M/V_{max} .

2.3.2. Inhibición competitiva

Ahora bien, cuando la enzima posee más de un sitio activo puede interactuar con más de un sustrato. En el caso de la inhibición competitiva el sustrato y el inhibidor compiten por el mismo sitio activo, de modo que la interacción de uno impide el acoplamiento del otro, por lo que se debe agregar otra ecuación en paralelo al mecanismo de reacciones:



donde la constante de equilibrio K_I se define como:

$$K_I = \frac{[EI]}{[E][I]}, \quad (2.65)$$

note que igual al caso anterior, la concentración del complejo enzima-sustrato se puede expresar aplicando la aproximación de estado estacionario, lo que nos lleva a la ecuación (2.57), solo que ahora la presencia del inhibidor implica que la concentración total de la enzima se escribe como:

$$[E]_0 \equiv [E] + [ES] + [EI], \quad (2.66)$$

combinando la ecuación anterior con la ecuación (2.65), podemos hallar una expresión para $[E]$:

$$\begin{aligned} [E] &= [E]_0 - [ES] - [EI] \\ [E] &= [E]_0 - [ES] - K_I[E][I] \\ [E] &= \frac{[E]_0 - [ES]}{1 + K_I[I]}. \end{aligned}$$

Juntando este resultado con la ecuación (2.57) tenemos:

$$k_1 \left(\frac{[E]_0 - [ES]}{1 + K_I[I]} \right) [S] = (k_{-1} + k_2) [ES], \quad (2.67)$$

de donde podemos escribir la concentración para el complejo enzima-sustrato:

$$[ES] \left(k_2 + k_{-1} + \frac{k_1[S]}{1 + K_I[I]} \right) = \frac{K_1[S][E]_0}{1 + K_I[I]}, \quad (2.68)$$

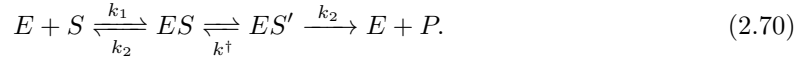
si ahora introducimos los parámetros de MM, Ec. (2.61) finalmente obtenemos la rapidez de la transformación del producto:

$$\omega = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{V_{max}[S]}{K_M(1 + K_I[I]) + [S]}. \quad (2.69)$$

Notése que si hacemos $[I] = 0$ recuperamos el caso *ideal*, en el que no existe la presencia de un inhibidor, por lo que la ecuación (2.69) contiene un grado más de libertad que no permite mayor flexibilidad al momento de ajustar la ecuación a los resultados experimentales.

2.3.3. Mecanismo de Michaelis-Menten modificado

Algunas veces, la enzimas no trabajan de una manera tan elemental como la descrita por el mecanismo de MM, de forma que existen diversas modificaciones al modelo que contienen más información del sistema. De forma análoga al conjunto de reacciones escritas en la sección anterior, podemos escribir el mecanismo de reacciones de una enzima como:



Este mecanismo se asemeja mucho al de una cinética simple descrita por el mecanismo de MM, sin embargo hay una pequeña diferencia: el estado de isomerización ES' que representa un cambio conformacional en la enzima, debido a la interacción con el sustrato. Con este esquema y siguiendo la metodología descrita para el mecanismo de MM simple, podemos llegar a un resultado similar:

$$v([T]) = -\frac{1}{[ES]_0} \frac{d[S]}{dt} = \frac{dk_{cat}[S]}{K_M^\ddagger + [S]}, \quad (2.71)$$

siendo $k_{cat} \equiv k_2 K^\ddagger / (K^\ddagger + 1)$ la constante catalítica que denota el numero máximo de reacciones enzimáticas realizadas en cada segundo, y $K_M^\ddagger = (k_{-1} + k_2 K^\ddagger) / (k_1 (K^\ddagger + 1))$ es una constante de MM modificada [9, 11].

Capítulo 3

Movimiento browniano

Las proteínas en los sistemas biológicos están inmersas en un medio donde las fluctuaciones térmicas son relevantes e incluso llegan a determinar su movimiento, por ello ahora introduciremos los conceptos de la física relacionados con las fluctuaciones térmicas, en particular discutiremos el llamado movimiento browniano.

Históricamente el estudio y entendimiento del movimiento browniano tiene un gran impacto en la comprensión de la naturaleza puesto que, aún a finales del siglo XIX, existía una gran disputa sobre la naturaleza atómica de las cosas, es decir, si realmente la materia estaba constituida de diminutas partículas discretas llamadas átomos. Aunque había resultados que conducían a dicha naturaleza como el número de Avogadro o la constante de Boltzmann, lo cierto era que no había estimaciones para conocer el valor de dichas cantidades, y mucho menos se había podido observar una molécula. Para aquellos que intentaron trabajar con la hipótesis atómica se enfrentaron una y otra vez a hechos inexplicables para la época: no sabían que tamaño asociar a cada uno de esos objetos diminutos, y aún proponiendo valores “razonables” la idea de plantear el sistema de ecuaciones de movimiento para tal cantidad de diminutas partículas era bastante complicado. Posteriormente se dieron cuenta de que en un sistema con tan gran número de partículas era *imposible*, además de innecesario, conocer las trayectorias individuales de cada parte del sistema, en su lugar era de más utilidad conocer el comportamiento colectivo del sistema, pensamiento que sentaría las bases de la mecánica estadística [14].

Fueron varios los investigadores que descubrieron la naturaleza aleatoria de las pequeñas partículas en un medio, sin embargo fue hasta 1827 cuando el botánico escocés Robert Brown llevó a cabo un estudio de manera sistemática intentando describir lo que ahora se conoce como movimiento browniano. Mientras estudiaba muestras de polen suspendidas en una solución acuosa, Brown halló un inexplicable movimiento azaroso y permanente en los granos de polen que observaba a través del microscopio. Primeramente él atribuyó este movimiento al hecho de que su sistema de estudio estaba formado por partículas pertenecientes a un sistema vivo, sin embargo, más adelante experimentó con otros materiales finamente molidos como vidrio, ceniza volcánica y otros objetos inanimados, en todos los casos hallando el mismo resultado: un movimiento aleatorio sin cesar y concluyó, correctamente, que se trataba de un fenómeno estrictamente físico [14].

Más adelante, varios científicos lograron dar una descripción matemática del movimiento browniano, pero fue hasta 1905 cuando Albert Einstein, simultáneamente que Marian Smoluchowski, quien logró dar una explicación teórica desde el punto de vista físico. Einstein describió el fenómeno

CAPÍTULO 3. MOVIMIENTO BROWNIANO

3.1. ECUACIÓN DE LANGEVIN

como un proceso inducido por el bombardeo de los átomos o moléculas sobre una partícula mesoscópica [14, 19].

Un resultado sobresaliente del trabajo de Einstein es la llamada ecuación de difusión, que describe la manera en que un conjunto de partículas brownianas se difunden en un fluido debido a las fluctuaciones inducidas por las colisiones moleculares presentes en el sistema. Originalmente un conjunto de partículas brownianas pueden estar localizadas en una región del espacio, después de un tiempo suficientemente largo este conjunto ocupa la totalidad del volumen del sistema. La ecuación de difusión es una ecuación diferencial parcial que al resolverla indica la variación temporal y espacial del número de partículas por unidad de volumen (o bien, la probabilidad de encontrar a una partícula en una posición dada en un cierto instante de tiempo). En dicha ecuación se introduce el coeficiente de difusión D que está relacionado con la temperatura del fluido por la relación:

$$D = \frac{k_B T}{m\gamma}, \quad (3.1)$$

donde m es la masa de la partícula, T la temperatura del fluido, k_B la constante de Boltzmann y γ el coeficiente de fricción efectivo del fluido. Para el caso de una partícula esférica la ecuación anterior se puede escribir en términos de la viscosidad y la constante de los gases, por medio de la aproximación de Stokes-Einstein [14]:

$$D = \frac{RT}{6\pi\eta a N_A}, \quad (3.2)$$

siendo η la viscosidad del fluido y N_A el número de Avogadro. Otra forma de conocer el coeficiente de difusión, el cual es uno de los resultados del trabajo de Einstein, es que se puede obtener que, asintóticamente, el desplazamiento cuadrático medio es proporcional al tiempo y la constante de proporcionalidad es dos veces la constante de difusión, es decir,

$$\langle x^2(t) \rangle = 2Dt, \quad (3.3)$$

de manera que midiendo la constante de difusión del medio, su viscosidad y su temperatura, somos capaces de dar una predicción para el número de Avogadro y la constante de Boltzmann, cosa que hizo el físico francés Jean Perrin unos años después del trabajo de Einstein, obteniendo valores para estas constantes muy precisos para la época. Por fin, la existencia *real* de los átomos había quedado en claro y daba pie a una nueva época para la física.

3.1. Ecuación de Langevin

Una descripción más simple del movimiento browniano la dio el físico francés Paul Langevin quien, en 1908, propuso una generalización a la ecuación de movimiento dada por la segunda ley de Newton para una partícula en un fluido. La ecuación de Langevin en una dimensión se escribe como:

$$m\ddot{x} = -m\gamma\dot{x} + f_R(t), \quad (3.4)$$

donde m es la masa de la partícula browniana, x es su posición y γ el coeficiente de fricción. La fuerza ejercida sobre la partícula debido al medio que la rodea está dividida en dos contribuciones: la primera es debido a la fricción del medio (proporcional a la velocidad) y la segunda toma en cuenta las fluctuaciones térmicas del fluido, es decir, las colisiones entre las partículas del fluido, que además es representado, matemáticamente, por un ruido blanco gaussiano [20]:

CAPÍTULO 3. MOVIMIENTO BROWNIANO
3.1. ECUACIÓN DE LANGEVIN

$$\begin{aligned}\langle f_R(t) \rangle &= 0 \\ \langle f_R(t) \rangle \langle f_R(t') \rangle &= A\delta(t - t').\end{aligned}\tag{3.5}$$

La primera ecuación nos indica que el promedio del valor de esta fuerza aleatoria es cero, mientras que el segundo término nos indica que el ruido térmico tiene una magnitud no nula, dependiendo de algún parámetro A . Las ecuaciones anteriores se conocen como el *Teorema de Fluctuación-Disipación*, que nos dice que la magnitud de la fuerza aleatoria es proporcional a la temperatura del baño térmico, es decir, $A = A(T)$. Note que ésta es una ecuación estocástica y no podemos obtener una solución para $x(t)$ de forma determinista sino únicamente cantidades estadísticas como el desplazamiento promedio y el desplazamiento cuadrático medio, por lo que el uso de métodos numéricos para resolver este tipo de ecuaciones se vuelve indispensable. La ecuación (3.4) se puede resolver por diversos métodos, ya sea mediante la transformada de Laplace [9], o a través de un análisis armónico, Apéndice (B), dando como resultado la siguiente expresión:

$$\dot{x} = \dot{x}(0)e^{-\gamma t} + \frac{1}{m} \int_0^t f_R(t')e^{-\gamma t-t'} dt'\tag{3.6}$$

que nos permite encontrar la dependencia de la amplitud del ruido en término de las características del sistema como la fricción y la temperatura:

$$A = k_B T \gamma,\tag{3.7}$$

expresión que es un caso particular del *Teorema de Fluctuación-Disipación*, cuyo caso general se muestra en el Apéndice (B).

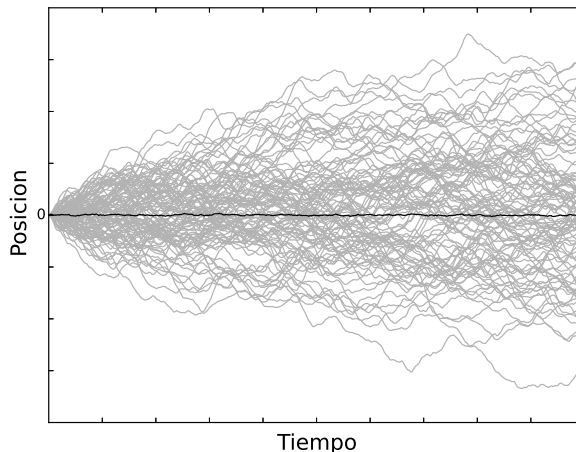


Figura 3.1: En color gris se muestra un ensamble de trayectorias probables para una partícula browniana, mientras que en color negro se muestra la trayectoria promedio de la partícula browniana. Note que la posición promedio se encuentra alrededor de la posición inicial $x = 0$.

Un resultado notable de esta ecuación es que la distancia promedio que recorre una partícula browniana, sujeta a un ruido blanco gaussiano es cero, es decir:

$$\langle x \rangle = 0. \tag{3.8}$$

Esto indica que aún cuando existe un gran número de fuerzas actuando sobre la partícula browniana, el transporte generado debido a la contribución de todas las fuerzas es nulo, lo cual es de esperarse puesto que la partícula se mueve en una dirección aleatoria con cada colisión lo cual, en promedio, lleva a un desplazamiento nulo, Fig. (3.1).

3.2. Motores brownianos

Aún cuando en el movimiento browniano el transporte neto resulta cero, existe una forma de generar una corriente de desplazamiento “aprovechando” las fluctuaciones térmicas del sistema. Naturalmente, si introducimos una fuerza constante en alguna dirección obtendremos este resultado, sin embargo la pregunta interesante es: ¿Es posible generar transporte neto en un sistema de partículas brownianas aún cuando el promedio de fuerzas que actúan sobre él es cero? La idea de generar un trabajo neto con solo aprovechar las fluctuaciones térmicas del sistema (las cuales tienen promedio cero) y sin hacer ningún esfuerzo extra suena a que estamos violando alguna ley de la naturaleza, lamentablemente estamos en presencia de un *perpetum mobile* tipo 2, y es aquí donde la segunda ley de la termodinámica viene en nuestra ayuda para decirnos que no es posible para sistemas en equilibrio termodinámico. Sin embargo aún existe una posibilidad, ¿qué tal si llevamos al sistema fuera del equilibrio? Ahora nada nos impediría aprovechar las fluctuaciones térmicas para realizar trabajo neto. Precisamente ésta es la definición de un motor browniano: un sistema que logra realizar un trabajo neto a partir de fuerzas de promedio cero y aprovechando las fluctuaciones térmicas del sistema, para que este sistema logre aprovechar las fluctuaciones de manera eficiente debe ser del orden de nanómetros, en cuyo caso las fluctuaciones térmicas son tan *intensas* que determinan el comportamiento del sistema. Richard Feynman es quién nos ayuda con un experimento pensado a entender esta situación [23].

3.2.1. Ratchet de Feynman

Como se sabe, Feynman llegó a tener un modo de pensar que cambió la forma en la que se concebía la ciencia para su época. En sus famosas Lecturas en Física [23], él habló acerca de un tipo de motor con características muy particulares, a través de un experimento pensado él propuso un diminuto dispositivo que funciona aprovechando las fluctuaciones térmicas del sistema. La idea consiste en dos recipientes aislados independientemente que contienen un gas a la misma temperatura T , ambos conectados por medio de un eje, en la primera caja el eje tiene aspas simétricas en forma de paleta, mientras que el segundo contiene una rueda dentada asimétrica con un trinquete (*ratchet* en inglés)¹. Además en medio del eje existe una polea que sostiene un pequeño peso. Podemos observar un modelo del *ratchet* de Feynman en la figura (3.2).

Para tomar en cuenta las fluctuaciones térmicas debidas al movimiento de las partículas de gas dentro de cada recipiente, imaginemos que hacemos este dispositivo tan diminuto que su escala es comparable con las partículas del gas. De acuerdo a la teoría cinética, estas partículas viajan en todas direcciones con diferentes velocidades que dependen de la temperatura del sistema, de esta manera se inducen colisiones en cualquier lugar dentro del recipiente. Si nos fijamos en la primera caja, algunas caras de las paletas recibirán colisiones por un lado y por el otro, de manera que

¹Se trata de un seguro o freno que permite girar a la rueda en una sola dirección, impidiendo su retroceso

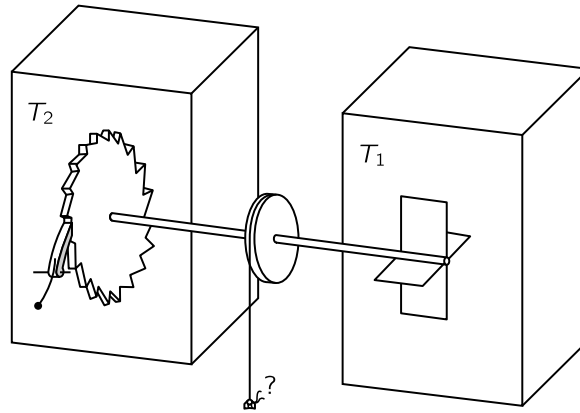


Figura 3.2: Experimento pensado: *ratchet* de Feynman

la paleta sufre impulsos estocásticos hacia una dirección y en sentido contrario, quedándose en promedio alrededor de la posición inicial. Lo que sucede en el otro recipiente es totalmente análogo salvo una cosa, la rueda dentada tiene un área menor de contacto, por lo cual las colisiones no son tan frecuentes como en el aspa con paletas, es decir, si solo estuvieran estos dos tipos de engrane, el que definiría el sentido de giro sería el de la primera caja, ya que tiene mayor área de contacto favorable a colisiones que alteren el sentido del giro. Debido a la presencia del trinquete en la segunda caja la situación cambia un poco, ya que éste evita el giro en un sentido determinado y, podríamos decir, que permite el giro hacia “adelante” y previene el giro hacia “atrás”, de forma que las colisiones solamente favorecerían el giro hacia adelante y en promedio ambos engranes unidos por el eje girarían hacia adelante, de esta forma también la polea colocada en el centro del eje giraría en un sentido y podría levantar el pequeño peso que fue atado a ella, produciendo así un trabajo neto a partir de fluctuaciones de promedio cero en un sistema que se encuentra en equilibrio termodinámico.

Este es un asombroso experimento pensado propuesto por Feynman, puesto que sugiere que las fluctuaciones térmicas pueden *aprovecharse* para producir un trabajo neto, pero debemos analizarlo con cautela, de lo contrario podríamos llegar a la conclusión de que este dispositivo funciona como un *perpetuum mobile* del tipo 2. ¿Realmente esto es así? De la segunda ley de la termodinámica sabemos que no puede ser posible, ¿dónde está el fallo? Bueno, nosotros olvidamos por un momento que en este sistema, debido a la presencia del movimiento browniano, las colisiones ocurren en **todas** las direcciones probables, por lo cual el pequeño trinquete también está expuesto a éstas, de manera que ocasionalmente podría suceder que el trinquete reciba un colisión favorable para liberar a la rueda dentada y al mismo tiempo una partícula colisione en un cara de la aspa con paletas, de manera que se favorezca el giro hacia atrás, teniendo así en realidad un movimiento en ambas direcciones y, en promedio, el sistema se quedaría alrededor de su posición inicial.

Aunque logramos encontrar el fallo a este asombroso experimento pensado, nos abre el camino para un nueva forma de pensar. Si en el experimento anterior cambiamos la temperatura de ambas cajas, de manera que la caja con las paletas simétricas tenga una temperatura T_1 y la caja con las aspas asimétricas esté a una temperatura T_2 , de forma que $T_1 > T_2$, entonces las colisiones en la primera caja serían más energéticas y más frecuentes que en la segunda, y ahora sí, en promedio el sistema giraría en una sola dirección determinada por las colisiones en la primera caja. ¡Hemos logrado un sistema que aproveche las fluctuaciones térmicas del sistema para generar un trabajo

neto! ¿Cómo lo hemos logrado? Llevando al sistema fuera del equilibrio.

Reuniendo las características principales del experimento pensado de Feynman se ha creado un concepto conocido como *motores brownianos*, los cuales funcionan con el mismo principio que el experimento anterior, reuniendo las siguientes características:

- El sistema se encuentra fuera de equilibrio termodinámico.
- Existe el rompimiento de alguna simetría.
- Presencia de fluctuaciones térmicas.
- Presencia de fuerzas de promedio cero.

De acuerdo a la hipótesis de Feynman, si lográramos hallar o construir un sistema con esta serie de características podríamos obtener un movimiento neto a partir las fluctuaciones térmicas del sistema.

3.2.2. Ecuación de Langevin generalizada

El primer paso para estudiar los motores brownianos es tener una herramienta matemática adecuada que nos permita obtener y predecir el comportamiento de este tipo de sistemas. Ya que la ecuación de Langevin modela a una partícula browniana, podemos generalizar ésta para tomar en cuenta las características de un motor browniano. Originalmente dicha ecuación solo toma en cuenta la información del medio a través de dos términos, el término de viscosidad, y el ruido blanco que simula las fluctuaciones térmicas en el sistema, a esto hay que agregar un término asimétrico y una fuerza temporal de promedio cero. Una propuesta para escribir esta ecuación, tomando en cuenta estos elementos es la siguiente:

$$m\ddot{x} = -m\gamma\dot{x} - \partial_x V(x) + f_R(t) + \eta(t), \quad (3.9)$$

donde $V(x)$ es un potencial asimétrico conocido en la literatura como potencial *ratchet*, $f_R(t)$ representa las fluctuaciones térmicas modeladas por un ruido blanco, y $\eta(t)$ es una fuerza que tiene promedio cero en el tiempo. Existen varias propuestas para el potencial *ratchet* que aparece en la ecuación (3.9), ya que el único requisito que necesita es que sea periódico y asimétrico y, por lo tanto, no existe una forma funcional única para definirlo.

La presencia de éstos elementos hace aún más difícil resolver la ecuación de Langevin de manera analítica, lo que hace imprescindible el uso de métodos numéricos, sin embargo, es de esperarse que incorporando estos elementos a la ecuación de Langevin logremos reproducir trayectorias con un sentido determinado, es decir que haya un transporte neto en alguna dirección preferente. En el siguiente capítulo resolveremos la ecuación de Langevin generalizada para obtener los desplazamientos promedio para diferentes modelos de potencial que pretenden representar un motor molecular.

Capítulo 4

La cinesina como un motor browniano

4.1. Motores brownianos acoplados

En los capítulos anteriores hemos discutido las bases físicas y químicas que nos permitirán estudiar la cinética de la cinesina considerándola como un motor browniano, es decir, un cuerpo que al moverse satisface la ecuación de Langevin generalizada de modo que su comportamiento se puede modelar por medio de una ecuación diferencial estocástica, Ec. (3.9).

Ya que la cinesina es una proteína motora formada por dos unidades principales que se unen al microtúbulo, una propuesta consiste en modelar a cada cabeza como un motor browniano, de manera que la ecuación (3.9) necesita ser escrita para cada una de las cabezas y además, se debe agregar un término extra que describa el acoplamiento entre ambas cabezas ¹. Tomando en cuenta estas consideraciones podemos escribir el siguiente sistema de ecuaciones [14] para representar una cinesina bicéfala:

$$m\ddot{x} = -\gamma\dot{x} - \partial_x V(x) - \partial_x V_b(x - y) + F_D \text{sen}(\Omega t + \phi) + \gamma\sqrt{2D}f_{R_1}(t), \quad (4.1)$$

$$m\ddot{y} = -\gamma\dot{y} - \partial_y V(y) - \partial_y V_b(x - y) + F_D \text{sen}(\Omega t + \phi) + \gamma\sqrt{2D}f_{R_2}(t), \quad (4.2)$$

donde x, y representan las coordenadas de cada cabeza de la cinesina, $V(x)$ es el potencial ratchet, $V_b(x - y)$ es el potencial de acoplamiento entre ambas cabezas, f_{R_1} y f_{R_2} representan un *ruido blanco gaussiano* independiente para cada cabeza que represente las fluctuaciones térmicas del sistema, y $\text{sen}(\Omega t + \phi)$ representa la fuerza temporal de promedio cero que actúa sobre el sistema y se denomina en la literatura como *rocking force*.

Note que ésta es una generalización de una ecuación de movimiento, de modo que incluso se puede meter más información dependiendo del sistema de estudio. En un principio podríamos construir una ecuación tan complicada análoga a las ecuaciones de Navier-Stokes para un fluido, tomando en cuenta las posibles contribuciones en el sistema, sin embargo, como primera aproximación, sólo se proponen esta combinación de potenciales para describir la ecuación de movimiento que satisface una proteína motora bicéfala.

¹Ya que éstas no avanzan de manera independiente, sino que el movimiento de ambas cabezas está limitado debido a su estructura.

Es importante recordar, de acuerdo a la primera sección de este trabajo, que las proteínas motoras son en realidad grandes super-familias de proteínas, y aunque ellas comparten aproximadamente 50% de sus aminoácidos en su estructura principal, esta ecuación (tal como está) ha sido pensada solo para describir el movimiento de aquellas cinesinas bicéfalas que se mueven a lo largo de los microtúbulos, como por ejemplo la cinesina convencional que además suele trabajar de manera individual o en pequeños grupos, mientras que otras proteínas motoras como la dineína y la miosina suelen trabajar en grandes ensambles de manera organizada, encontrando la participación de millones de éstas de manera acoplada [11]. Ya que son condiciones diferentes para cada categoría de proteínas motoras, necesitaríamos de términos extras o adecuados en la ecuación de movimiento, que permitan describir cada sistema en particular. Por ello, es importante remarcar que en este trabajo nos limitamos al estudio y solución de la ecuación de movimiento de una cinesina convencional.

4.2. Potencial ratchet

Uno de los elementos más estudiados de las ecuaciones que describen los motores brownianos es el llamado potencial *ratchet*, debido a que éste solo necesita cumplir dos condiciones: que sea asimétrico y periódico, lo cual deja abierta la posibilidad de una amplia variedad de propuestas para una expresión funcional. Una propuesta de este tipo fue hecha por Mateos, que propone un potencial que resulta de una combinación lineal de funciones trigonométricas [14]:

$$V(x) = C - U_R \left[\sin 2\pi(x - x_0) + \frac{1}{4} \sin 4\pi(x - x_0) \right], \quad (4.3)$$

donde C es tal que $V(0) = 0$ y x_0 es introducido para que el mínimo del potencial coincida con el origen. Podemos observar este potencial en la Fig.(4.1), donde se han usado los siguientes valores: $U_R = 0.01583143$ y $x_0 = -0.190359$.

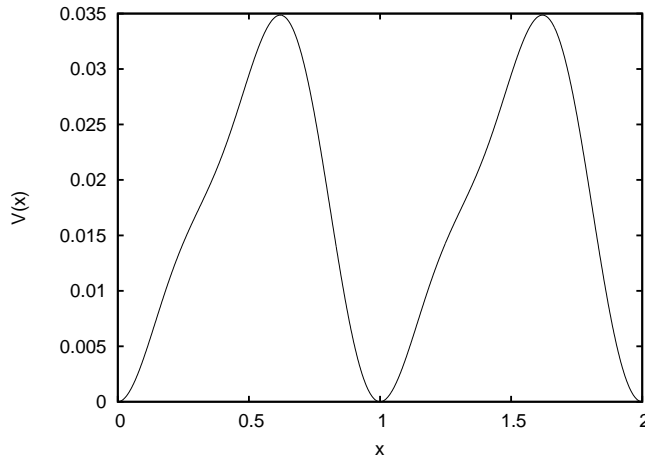


Figura 4.1: Gráfica del potencial *ratchet* de Mateos

Una propuesta análoga se hace a través de un potencial triangular, el cual nos da como resultado una fuerza constante por intervalos. Este se conoce como *potencial triangular* y está definido de la siguiente manera:

$$V(x) = \begin{cases} m_1 x & x \in [n, n + x_{max}) \\ m_2 x & x \in [n + x_{max}, n + 1) \end{cases}, \quad n = 0, 1, \dots \quad (4.4)$$

donde m_1 y m_2 son escogidos de tal forma que los mínimos y los máximos del potencial coincidan con el valor del potencial de Mateos y x_{max} es el valor del potencial tal que $V(x_{max})$ es un máximo local en un periodo. Podemos ver la comparación entre ambos potenciales en la Fig. (4.2), donde se ha tomado $x_{max} = 0.6193$.

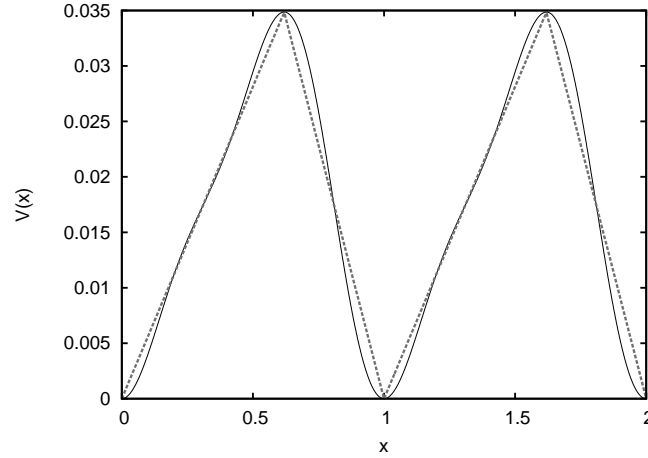


Figura 4.2: Comparación entre las gráficas de dos modelos de potencial *ratchet*. La línea punteada representa al potencial triangular mientras que la línea sólida representa al potencial de Mateos.

A través de la Fig. (4.2) se aprecia que ambos potenciales son muy similares, solo que el *ratchet* de Mateos es más suave y el *ratchet* triangular presenta picos que dan lugar a una fuerza discontinua, sin embargo ambos son periódicos y asimétricos. Al estudiar las fuerzas asociadas a cada modelo de potencial, Fig. (4.3), podemos apreciar que son muy diferentes pues el potencial triangular da lugar a una fuerza discontinua, a pesar de ello compararemos ambas expresiones en el algoritmo computacional para ver como cambia el comportamiento de las trayectorias obtenidas en función del tipo de potencial.

4.3. Trayectorias: Primera aproximación

Para llevar a cabo el cálculo de las trayectorias a partir de los modelos descritos anteriormente, por la ecuación de Langevin generalizada, se implementó un algoritmo computacional basado en el método de integración numérica RK4². Como primera aproximación, para probar el programa, se tomó en cuenta un solo motor browniano, es decir, se eliminó el término de acoplamiento y se trabajó con una sola ecuación diferencial estocástica con el fin de observar las trayectorias para un solo motor browniano y verificar si los resultados reflejan el comportamiento esperado.

En la literatura, esta ecuación es trabajada en el régimen sobre-amortiguado, de forma que la ecuación se escribe como [22]:

$$\gamma \dot{x} = -\partial_x V(x) + F_D \sin(\Omega t + \phi) + \gamma \sqrt{2D} f_R(t), \quad (4.5)$$

²El método de integración numérica de Runge-Kutta 4 se explica con más detalle en el apéndice C.

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.3. TRAYECTORIAS: PRIMERA APROXIMACIÓN

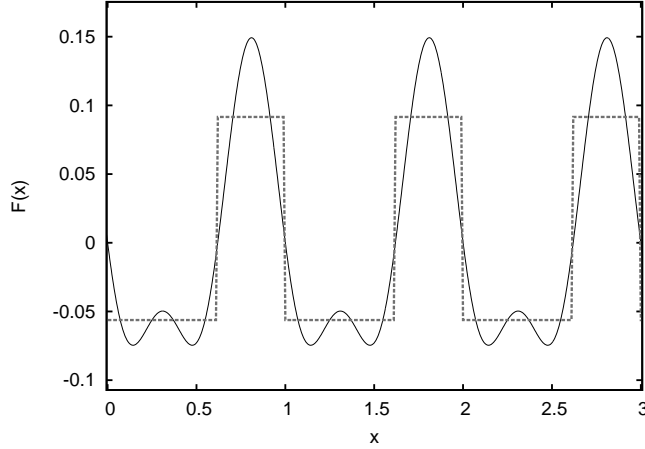


Figura 4.3: Comparación entre las gráficas de las fuerzas asociadas al potencial *ratchet*. La línea punteada representa la fuerza asociada al potencial triangular mientras que la línea sólida representa la fuerza asociada al potencial de Mateos.

además, ya que el método de RK4 es un método de integración discreto, el proceso estocástico se puede modelar mediante un proceso de Wiener [28]

$$f_R(t) \rightarrow n \cdot \sqrt{dt}, \quad (4.6)$$

siendo n una variable aleatoria con distribución gaussiana, es decir, que tiene valor promedio cero y varianza igual a uno ($\langle n = 0 \rangle$, $\sigma = 1$). De esta forma, la ecuación (4.5) puede escribirse bajo el esquema de RK de la siguiente forma:

$$x_{i+1} = x_i + \frac{1}{6} (k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4) h + n\sqrt{2D}\sqrt{h}, \quad (4.7)$$

siendo

$$k_i = k_i(f(x_j, t_j)), \quad (4.8)$$

donde se ha escrito $f(x_j, t_j)$ como la contribución del potencial *ratchet* R y el *rocking-force* RF , y $h = dt$ representa el tamaño del paso. Siguiendo la metodología mostrada en el apéndice C, se obtuvieron los parámetros de RK4, y se hizo el cálculo de las trayectorias para una partición uniforme de $h = 0.01$ y $t_{final} = 500s$, con dos expresiones diferentes para el potencial *ratchet*: el potencial triangular y el potencial de Mateos.

La trayectorias que se muestran en la figura (4.4) se obtuvieron al resolver simultáneamente la ecuación (4.5) para dos tipos diferentes de potencial, de manera que ambos sistemas han estado sujetos al mismo ruido para cada paso. Podemos observar que las trayectorias siguen el comportamiento esperado, un movimiento azaroso pero que en promedio avanza en una dirección definida. Al comparar las trayectorias para ambos tipos de expresión del potencial se observa que no difieren mucho, lo cual muestra que el potencial triangular es una aproximación suficientemente buena, a pesar de que la fuerza asociada a dicho potencial está definido a trozos, sin embargo es mejor trabajar con el *ratchet* de Mateos debido a que es una fuerza continua.

El comportamiento típico reportado de la trayectoria de una cinesina puede observarse en la figura (4.5) [13]. Al comparar estos resultados con nuestra primera aproximación podemos notar un

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.3. TRAYECTORIAS: PRIMERA APROXIMACIÓN

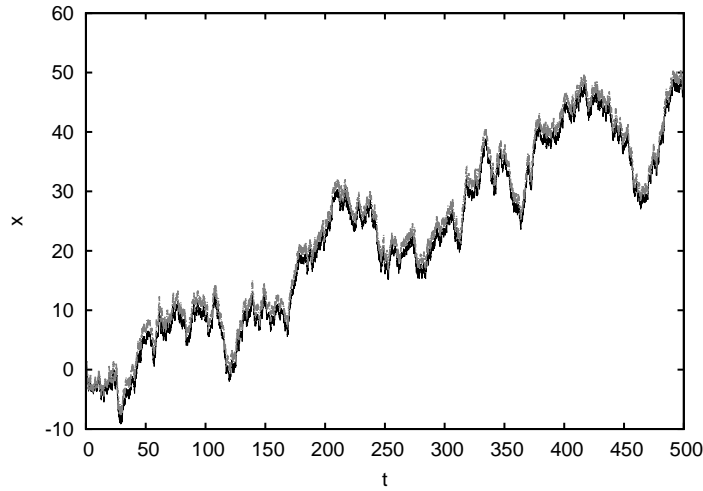


Figura 4.4: Comparación gráfica de trayectorias obtenidas a partir de dos expresiones diferentes del potencial *ratchet*. La línea negra fue obtenida para el potencial de Mateos mientras que la línea gris representa el resultado obtenido para el potencial triangular.

comportamiento similar, lo cual muestra que la propuesta de los motores brownianos modelados por medio de la ecuación de Langevin logra dar una predicción cualitativamente correcta. Sin embargo el potencial *ratchet* no tiene una expresión funcional única, y hasta este momento las características físicas de nuestro sistema de estudio no han aparecido de manera explícita en la ecuación, por lo que nuestro objetivo es construir un potencial del tipo *ratchet* a partir de un modelo bioquímico, que nos permitirá apreciar los parámetros característicos de nuestro sistema a nivel de ecuaciones.

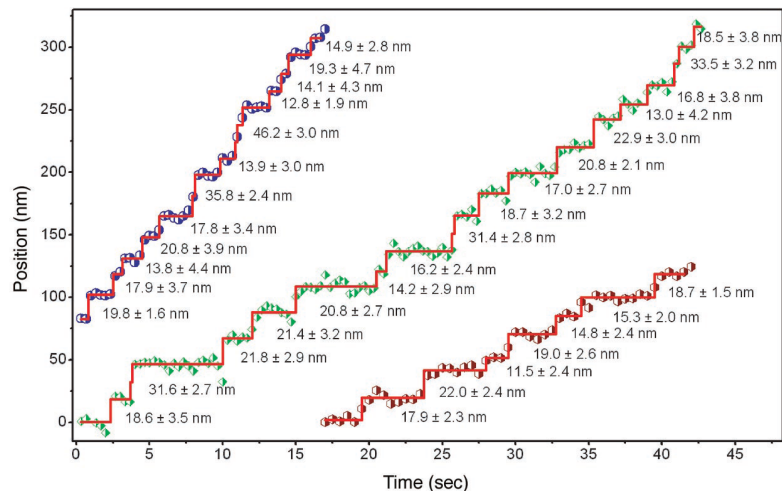


Figura 4.5: Trayectoria típica reportada para tres tipos de cinesinas diferentes. Se observa una trayectoria formada por un total de 354 pasos de 35 cinesinas observadas, el promedio de paso es de $17.3 \text{ nm} \pm 3.3 \text{ nm}$. Imagen tomada del original de Yildiz, *et al.* [13].

4.4. Potencial Ratchet: Modelo bioquímico

La catálisis enzimática se puede describir a través del mecanismo de Michaelis-Menten (MM), sin embargo, el mecanismo de la cinesina como enzima llega a ser más complejo porque presenta diferentes estados, entre ellos un estado de isomerización, que no están contemplados en el modelo de MM clásico, debido a ello se analizará una generalización del mecanismo de MM. Visscher y Schnitzer proponen un modelo en el cual se establece un mecanismo que modela el mecanismo de avance de la cinesina suponiendo que cada dominio de la cabeza de esta proteína motora tiene afinidad tanto por moléculas de *ATP* como de *ADP*. Con esta propuesta y reuniendo los resultados experimentales expuestos en la sección (1.4.2), se puede establecer el siguiente mecanismo de seis reacciones químicas que modela la actividad enzimática de la cinesina sobre el microtúbulo. Hay un paso extra que no forma parte del mecanismo, el cual solo modela como la cinesina se une por vez primera al microtúbulo [9, 11, 15, 16, 26]:

- $KD + M \rightarrow MK_{\alpha}$: En solución, cada cabeza de la cinesina se encuentra unida a una molécula de *ADP*, de forma que cuando llega al microtúbulo una de estas cabezas, que desde ahora llamaremos la cabeza α , libera su molécula de *ADP* para unirse al microtúbulo.

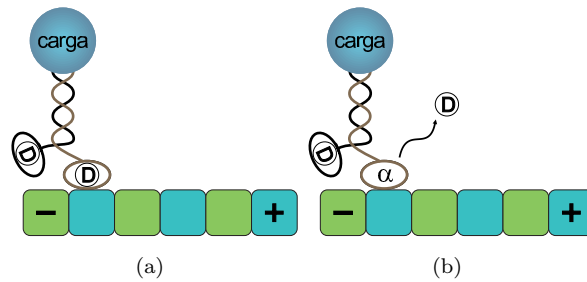


Figura 4.6: Paso 0: La cinesina se une al microtúbulo liberando una molécula de *ADP*

1. $MK_{\alpha} + T \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} MKT_{\alpha}$: Se forma el complejo enzima-sustrato MKT_{α} , de forma que la cabeza α queda enlazada al microtúbulo con una molécula de *ATP*, la cual permite que el enlace entre la cinesina y el microtúbulo sea más fuerte y evite un posible disociamiento a lo largo del proceso.

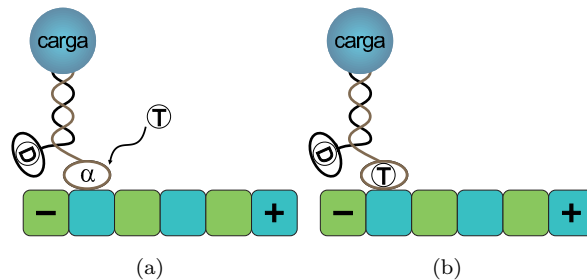


Figura 4.7: Paso 1: Se une una molécula de *ATP* a la cabeza α para crear un enlace más fuerte al microtúbulo.

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.4. POTENCIAL RATCHET: MODELO BIOQUÍMICO

2. $MKT_{\alpha} \xrightleftharpoons{K^{\dagger}} MKT'_{\alpha}$: La presencia del *ATP* en la cabeza α induce un cambio conformacional en el cuello enlazador de la cinesina, que da lugar a una isomerización del complejo, que lleva al complejo MKT_{α} a un estado isomerizado MKT'_{α} , en el cual la cabeza libre β “avanza” con respecto a la cabeza α .

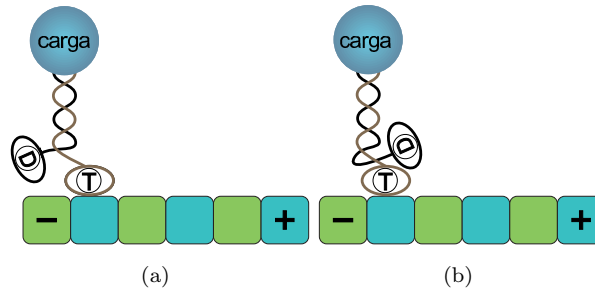


Figura 4.8: Paso 2: La cinesina sufre un cambio conformacional inducido por la unión de la molécula de *ATP*.

3. $MKT'_{\alpha} \xrightarrow{k_2} MKT_{\alpha}D_{\beta}$: La cabeza libre β que tiene una molécula de *ADP* se une al microtúbulo.

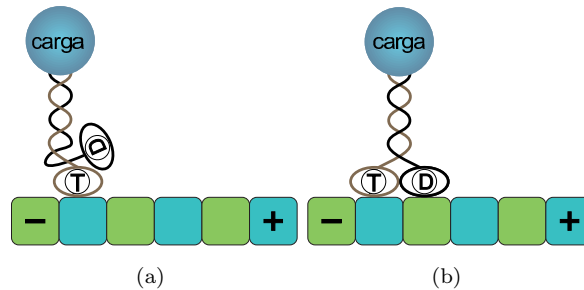


Figura 4.9: Paso 3: La cabeza β se une al siguiente sitio disponible del microtúbulo.

4. $MKT_{\alpha}D_{\beta} \xrightarrow{k_3} MK_{\beta}T_{\alpha}$: La cabeza β libera su molécula de *ADP* para hacer su enlace *más fuerte* con el microtúbulo.

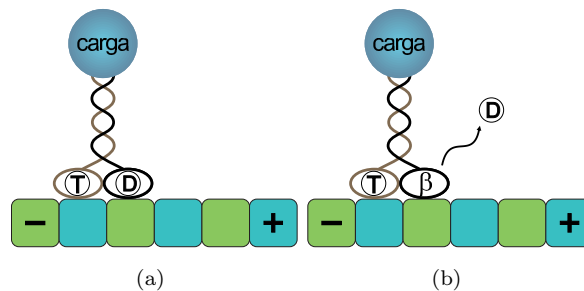


Figura 4.10: Paso 4: La cabeza β libera su molécula de *ADP* para crear un enlace más fuerte con el microtúbulo.

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.4. POTENCIAL RATCHET: MODELO BIOQUÍMICO

5. $MK_{\beta}T_{\alpha} \xrightarrow{k_4} MK_{\beta}(D \circ P)_{\alpha}$: Se lleva a cabo la hidrólisis del *ATP* en la cabeza α , obteniendo una molécula de *ADP* y un fosfato inorgánico.

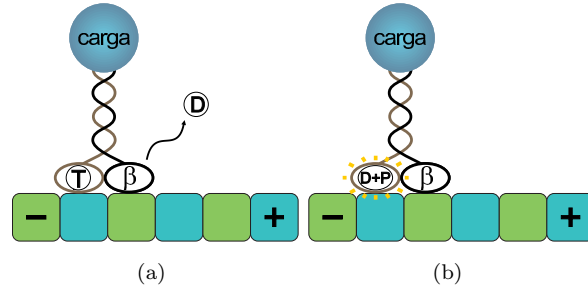


Figura 4.11: Paso 5: Se lleva a cabo la hidrólisis del *ATP* en la cabeza α .

6. $MK_{\beta}(D \circ P)_{\alpha} \xrightarrow{k_5} MK_{\beta} + D + P_{in}$: La hidrólisis del *ATP* suministra la energía suficiente para que la cabeza α se libere del microtúbulo, quedando de esta manera libre, mientras la cabeza β aún permanece anclada.

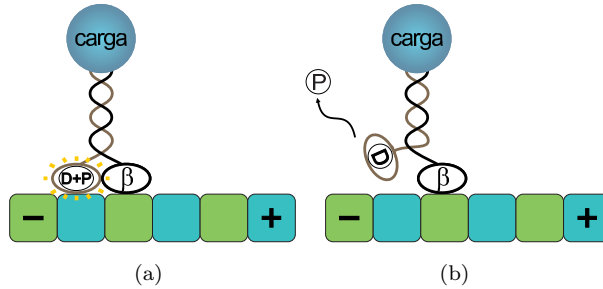


Figura 4.12: Paso 6: La hidrólisis suministra la energía suficiente para que la cabeza α se separe del microtúbulo.

De esta forma, cada ciclo de pasos que da la cinesina sobre el microtúbulo puede ser visto como un conjunto de reacciones químicas, que determinan el siguiente estado del sistema. A este conjunto de reacciones podemos asociarle un perfil de energía que determina el movimiento de la proteína a lo largo del microtúbulo. Note además que en esta construcción no aparece la información de las fluctuaciones térmicas de manera explícita, esto debido a que la catálisis enzimática contiene información que es medible macroscópicamente, de manera que lo que se observa es un promedio estadístico de lo que ocurre a nivel microscópico³.

De acuerdo a la ecuación (2.21) y considerando un gas muy diluido para reacciones elementales, la energía libre de Gibbs en término del grado de avance de la reacción se puede escribir como:

$$dG_j = -RT \sum_i \ln \left| \frac{n_i}{n_i^{eq}} \right|^{\nu_{ij}} d\xi_j, \quad (4.9)$$

³En realidad cuando un sustrato se acerca al sitio activo de una enzima, la unión no se produce al primer intento, sino que varios sustratos pueden llegar a acercarse al sitio activo sin tener éxito, hasta que finalmente el enlace se realiza eficientemente.

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.4. POTENCIAL RATCHET: MODELO BIOQUÍMICO

siendo j el número de la reacción elemental dentro del mecanismo de reacciones. Se sabe experimentalmente que las reacciones (4)-(6) del ciclo mostrado, ocurren de manera “más rápida” que las reacciones (1)-(3), de forma que el paisaje de energía libre de Gibbs está determinado solo por las primeras tres reacciones del ciclo [9, 16]. Para la primera reacción del modelo bioquímico propuesto, la ecuación (4.9) se puede escribir como:

$$dG = -RT \left[\ln \left| \frac{n_{Mk}^{\nu_{Mk}}}{(n_{Mk}^{\nu_{Mk}})^{eq}} \right| + \ln \left| \frac{n_T^{\nu_T}}{(n_T^{\nu_T})^{eq}} \right| + \ln \left| \frac{n_{MkT}^{\nu_{MkT}}}{(n_{MkT}^{\nu_{MkT}})^{eq}} \right| \right] d\xi \quad (4.10)$$

Por otro lado, tomando en cuenta la segunda reacción del mecanismo, y por la ley de acción de masas, Ec. (2.32), tenemos:

$$K^\dagger = \frac{(n_{MkT'})^{eq}}{(n_{MkT})^{eq}}, \quad (4.11)$$

donde

$$K^\dagger = k_0 e^{-f\delta/k_B T} \quad (4.12)$$

es la constante de equilibrio corregida para tomar en cuenta el efecto del peso f transportado por el motor molecular y δ es la distancia recorrida por la vesícula durante la isomerización [16]. Note que los coeficientes estequiométricos están dados por los siguientes valores $\nu_{Mk} = 1$, $\nu_T = -1$ y $\nu_{MkT} = -1$. Ya que las reacciones dadas en el paso (1) y (2) están acopladas, a cada instante la concentración del complejo MkT puede ser calculada a través del orden de la reacción, que se escribe como:

$$\begin{aligned} dn_{MkT} &= -(-1)d\xi_1 \\ dn_{MkT'} &= -(1)d\xi_2 \\ \Rightarrow d\xi_1 &= d\xi_2. \end{aligned} \quad (4.13)$$

Y también se puede establecer la siguiente relacion:

$$\begin{aligned} n_{MkT} &= n_{MkT}^0 + \xi_1 = n_{MkT}^0 - \xi_2 \\ n_{MkT'} &= n_{MkT'}^0 + \xi_2 = n_{MkT'}^0 - \xi_1, \end{aligned}$$

con estas expresiones la ecuación (4.11) puede reescribirse como:

$$(n_{MkT})^{eq} = \frac{[n_{MkT'}^0 - \xi_1]^{eq}}{K^\dagger}. \quad (4.14)$$

Al sustituir estos resultados dentro de la ecuación (4.10), y haciendo una expansión en serie de Taylor para la función $\ln x \approx x - 1$ para $x \sim 1$, notando además que $x \equiv n_i/n_i^{eq} \sim 1$ se cumple para reacciones cercanas al equilibrio como es el caso del estado de isomerización, tenemos el siguiente resultado:

$$\frac{dG}{RT} = - \left[(n_{Mk}^0 - \xi) (n_T^0 - \xi) (n_{MkT'}^0 - \xi) - (n_{Mk}^{eq} n_T^{eq} n_{MkT'}^{eq}) + \frac{f\delta}{k_B T} \right] d\xi. \quad (4.15)$$

Integrando sobre ξ la ecuación anterior, tenemos la variación en la energía libre de Gibbs en términos del grado de avance de la reacción:

$$\frac{\Delta G(\xi)}{RT} = A\xi^4 - B\xi^3 + C\xi^2 - (D - D_{eq})\xi - \frac{f\delta}{k_B T}\xi, \quad (4.16)$$

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.4. POTENCIAL RATCHET: MODELO BIOQUÍMICO

el cual es un polinomio de cuarto orden que, físicamente, representa un potencial biestable, y los coeficientes correspondientes están dados por:

$$\begin{aligned}
 A &= \frac{1}{4} \\
 B &= \frac{1}{3} (n_{Mk}^0 + n_T^0 + n_{MkT'}^0) \\
 C &= \frac{1}{2} (n_{Mk}^0 n_T^0 + n_{MkT'}^0 n_T^0 + n_{MkT'}^0 n_{Mk}^0) \\
 D &= n_{Mk}^0 n_T^0 n_{MkT'}^0 \\
 D_{eq} &= n_{Mk}^{eq} n_T^{eq} n_{MkT'}^{eq}.
 \end{aligned} \tag{4.17}$$

Note que los coeficientes que acompañan a cada potencia del polinomio están directamente relacionadas con las concentraciones iniciales y de equilibrio de cada complejo en el sistema. En la figura (4.13) se muestra una gráfica del paisaje de energía libre de Gibbs para el proceso enzimático llevado a cabo por la cinesina, los valores fueron tomados de I. Santamaría y colaboradores[26]. Note que el cambio en la energía libre de Gibbs es asimétrico, es decir, hay dos mínimos locales con diferentes valores, lo cual refleja el hecho de que el estado isomerizado MkT' es más favorable que el estado MkT , lo que promueve el movimiento del motor en una dirección preferente, hacia el estado isomerizado, es decir, cuando la cinesina da un paso hacia adelante. Sin embargo, si las fluctuaciones térmicas que afectan al sistema fueran *más* grandes que la barrera de potencial que separa a esos estados, la cinesina podría eventualmente *regresar* un paso hacia atrás en el proceso.

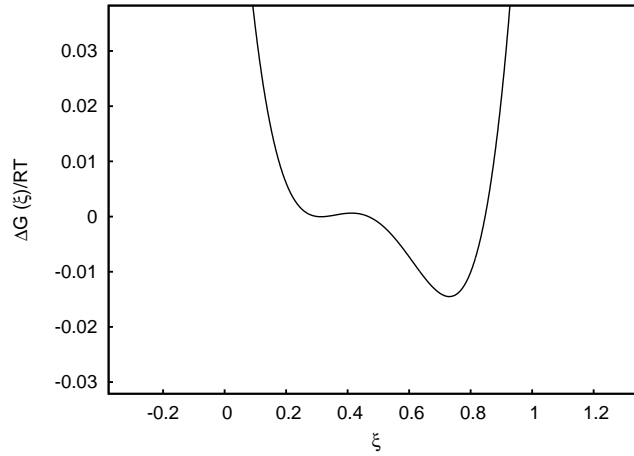


Figura 4.13: Gráfica de la ecuación (4.16) que muestra el paisaje de la energía libre de Gibbs para el mecanismo de seis reacciones de la cinesina que modela un paso de la cinesina sobre el microtúbulo. Datos tomados parcialmente de [9, 15, 26].

Este mecanismo de seis reacciones representa **un paso** de la cinesina sobre el microtúbulo, y es de esperarse que este mecanismo sea cíclico, es decir, en cada paso se tenga un paisaje de energía libre similar. Para obtener una expresión que modele el paisaje de energía a lo largo del recorrido de la cinesina, es necesario expresar el potencial dado por la ecuación (4.16) como una función periódica, para ello procederemos a hacer una expansión en series de Fourier de la energía libre de Gibbs:

$$\frac{\Delta G(\xi)}{RT} = \frac{A_0}{2} + \sum_{n=0}^N \left[A_n \cos\left(\frac{2n\pi\xi}{L}\right) + B_n \sin\left(\frac{2n\pi\xi}{L}\right) \right] + D_{eq}\xi - \frac{f\delta}{k_B T}\xi, \quad (4.18)$$

donde los coeficientes A_n y B_n se calculan como:

$$\begin{aligned} A_n &= \int_0^L (A\xi^4 - B\xi^3 + C\xi^2 - D\xi) \cos\left(\frac{2n\pi\xi}{L}\right) d\xi, \\ B_n &= \int_0^L (A\xi^4 - B\xi^3 + C\xi^2 - D\xi) \sin\left(\frac{2n\pi\xi}{L}\right) d\xi, \end{aligned} \quad (4.19)$$

siendo L el periodo del potencial. Note que al hacer la expansión en series de Fourier no se consideraron los últimos dos términos de la Ec.(4.16), ya que estos están determinados por las condiciones en equilibrio del sistema y por la fuerza ejercida por la carga transportada, de manera que éstos no dependen del grado de avance de la reacción.

Una gráfica de este potencial se puede observar en la figura (4.14). Note que de manera natural hemos construido un potencial periódico y asimétrico, de manera que cumple las condiciones necesarias para ser usado como un potencial *ratchet*, con la ventaja de que ahora podemos ajustar la ecuación con parámetros del sistema, como las concentraciones de cada complejo y la fuerza debido a la carga transportada.

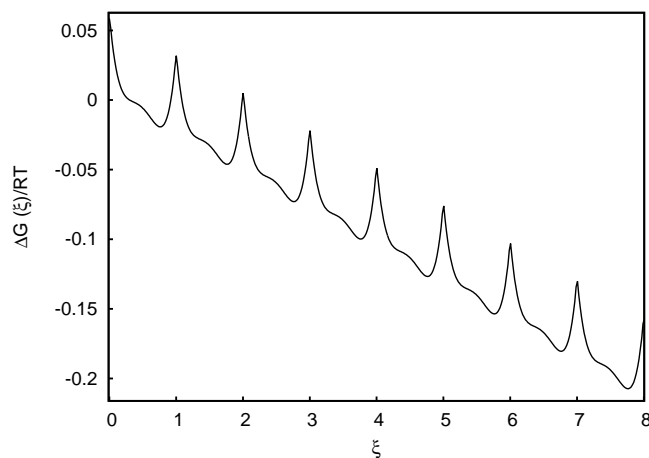


Figura 4.14: Gráfica de la energía libre de Gibbs como un potencial periódico que modela el desplazamiento de la cinesina sobre el microtúbulo.

4.4.1. Análisis del potencial ΔG

Mientras realizamos el estudio del paisaje de energía para el mecanismo de reacciones de la cinesina sobre el microtúbulo, Fig. (4.13), notamos que en realidad el potencial construido tiene tres características: es periódico, asimétrico y además es un potencial *biestable*. Este doble pozo, en el modelo bioquímico, representa el estado de isomerización que ocurre durante el mecanismo de reacciones, y la barrera más grande al final de cada paso representa la barrera energética que debe superarse mediante la hidrólisis del *ATP* para despegar una de las cabezas y comenzar un nuevo ciclo, Fig. (4.14). Este hecho refleja que ambas cabezas están acopladas, es decir, no caminan de

manera independiente, y precisamente éste es el argumento para introducir un potencial biestable en la ecuación de Mateos, Ec. (4.1). Con lo cual nos dimos cuenta de que este potencial, que hemos construido mediante la energía libre de Gibbs, es proporcional a dos potenciales de la ecuación de Mateos: el potencial *ratchet* y el potencial biestable.

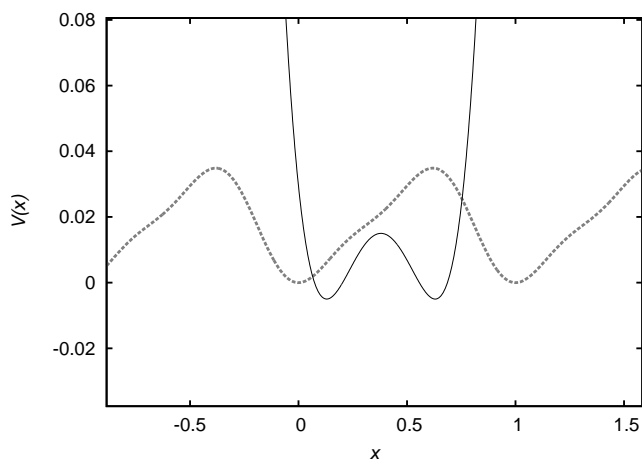


Figura 4.15: Gráfica de dos potenciales propuestos por Mateos. La línea punteada en gris representa el potencial de *ratchet*. En negro se muestra el potencial biestable. Se usó un corrimiento en x_0 , de manera que el periodo de ambos coincidieran en un ciclo [14].

En la Fig.(4.15) se observa una gráfica del potencial *ratchet* y el potencial biestable que propone Mateos [14]. Si nosotros sumamos estos dos potenciales podemos obtener una nueva función que es periódica y asimétrica tal como puede observarse en la figura (4.16). Note que la suma de ambos potenciales tiene la misma forma que el potencial construido mediante la energía libre de Gibbs, es decir, este último potencial ya contiene la información de que ambas cabezas son dependientes la una de la otra, de forma que ya no es necesario trabajar con dos ecuaciones acopladas para modelar la trayectoria de la cinesina que contengan un potencial biestable, Ec.(4.1), sino que en su lugar es suficiente trabajar con una sola ecuación donde contribuyan los siguientes términos:

$$-\gamma\dot{x} = -\partial_x \Delta G(x) + F_D \cos\left(\frac{2\pi t}{\tau}\right) + \gamma\sqrt{2D}f_R(t), \quad (4.20)$$

donde hemos expresado la energía libre de Gibbs en términos del desplazamiento d que da una cinesina por cada mecanismo de reacciones terminado: $x = d \cdot \xi$, siendo $d = 8nm$ el tamaño del paso de una cinesina por cada ciclo completado. Además, este potencial no solo contiene la interacción entre las cabezas, sino que también contiene de manera implícita la interacción de la cinesina con el microtúbulo. El periodo τ que aparece en el *rocking-force* es la frecuencia con la que una molécula de *ATP* es hidrolizada durante la caminata de la cinesina, la cual, con referencias en la sección (1.4.2) tiene un valor de $\tau \sim 0.1$ s.

4.5. Trayectorias: Segunda aproximación

Para trabajar la ecuación (4.20) primero note que el argumento de la energía libre de Gibbs $x = d \cdot \xi$ se encuentra en unidades de nanómetros, por lo que es necesario reescalar toda la ecuación de forma que los parámetros físicos que están involucrados sean expresados también en esta escala.

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.5. TRAYECTORIAS: SEGUNDA APROXIMACIÓN

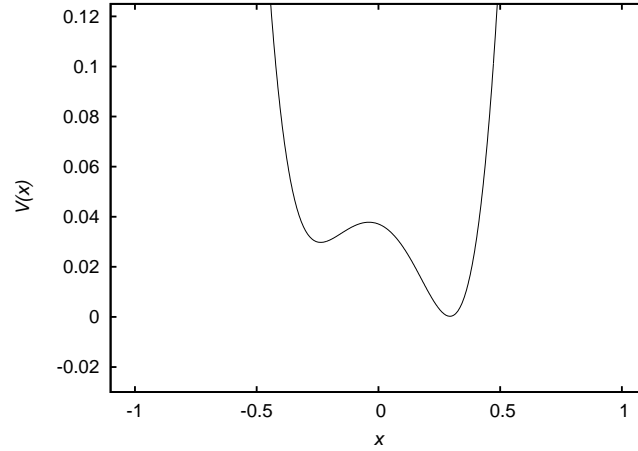


Figura 4.16: Gráfica que muestra la suma de dos potenciales propuestos por Mateos, que tiene la misma forma que el potencial de Gibbs, Fig.(4.13).

Uno de los impedimentos que encontramos al estudiar esta ecuación es que los parámetros físicos propuestos en la literatura no *parecen* tener una justificación física y, hasta donde sabemos, solo es reportado el modelo a usar junto con los resultados obtenidos, mostrando superficialmente que parámetros se usaron, sin mostrar como éstos se relacionan con las constantes físicas del sistema. Para que la ecuación (4.20) realmente modele nuestro sistema de estudio, una cinesina que se desplaza a lo largo del microtúbulo dentro de la célula teniendo como fuente de energía la hidrólisis del ATP, es importante introducir la información del medio a través de los parámetros de dicha ecuación. Es por ello que en este trabajo nos encargamos de averiguar cuales son los parámetros físicos relacionados con las fuerzas presentes en nuestra ecuación de movimiento, de forma que ésta describa de la mejor manera a una cinesina que se desplaza en el microtúbulo.

Se sabe que, para algunos líquidos, el coeficiente de difusión es del orden de $D \sim 10^{-9} m^2/s$, además experimentalmente se ha mostrado que la fase fluida del citoplasma es 28 % más viscosa que el agua, lo que sugiere que las propiedades físicas de la parte acuosa del citoplasma celular⁴ son muy similares a las del agua, como por ejemplo el coeficiente de difusión. Se ha hallado experimentalmente que el coeficiente de difusión para pequeños metabolitos⁵ dentro del citoplasma llega a ser de $D \sim 2 \cdot 10^{-10} m^2/s$, mientras que para moléculas más grandes⁶ tiene un valor aproximado de $D \sim 1.15 \cdot 10^{-11} m^2/s$ [30, 31, 32, 33].

La magnitud del coeficiente de viscosidad γ no es independiente, ya que depende del valor de D de acuerdo al teorema de fluctuación-disipación, de forma que:

$$\gamma = \frac{kT}{D} \sim \frac{4.27 \cdot 10^{-21} N/m}{10^{-11} m^2/s} \sim 4.27 \cdot 10^{-10} kg/s. \quad (4.21)$$

Finalmente, la amplitud del *rocking-force* puede ser vista como la fuerza necesaria que suministra la hidrólisis del ATP para transportar un vesícula estándar, experimentalmente la cinesina es capaz de transportar cargas de $\sim 2pN$. Con estos parámetros procedimos a aplicar el método de RK4 a

⁴La parte del citoplasma que está más al interior de la célula, justo donde se hallan los centros de nucleación de los microtúbulos.

⁵Peso aproximado de 50 kDa.

⁶Pero aproximado de 300kDa.

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.5. TRAYECTORIAS: SEGUNDA APROXIMACIÓN

la ecuación (4.20) para obtener la solución de la ecuación de movimiento, es decir, obtener una de las trayectorias *probables* que puede tener la cinesina en función del tiempo. Para una trayectoria obtuvimos resultados similares a los mostrados en la Fig. (4.4), lo que nos mostró que el potencial obtenido por el método bioquímico cumple satisfactoriamente las condiciones necesarias para dar lugar a un movimiento neto en la partícula browniana. Sin embargo, recordemos que esta ecuación, al ser una ecuación estocástica, se debe resolver para cantidades promedio, de forma que es necesario hacer un promedio sobre un *ensamble* de trayectorias con el fin de obtener las cantidades promedio que describan a nuestro sistema. Al realizar el promedio sobre las trayectorias nos enfocamos en medir dos resultados importantes, el desplazamiento promedio $\langle x \rangle$, que nos permite conocer la velocidad promedio $\langle v \rangle$, y el desplazamiento cuadrático medio, msd^7 , $\langle x^2 \rangle$, que caracteriza el comportamiento difusivo del sistema.

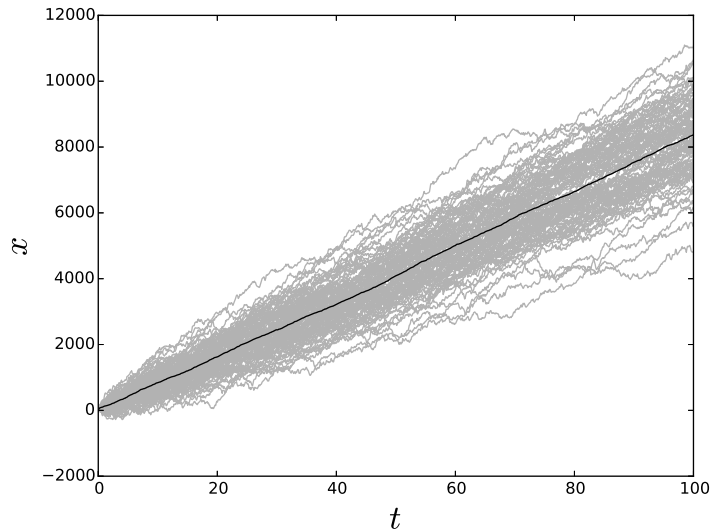


Figura 4.17: Gráfica que muestra un ensamble de 100 trayectorias para un tiempo total de 100s. Se usó este número de trayectorias para no saturar la imagen y, al mismo tiempo, tener un panorama general del comportamiento del sistema. La velocidad promedio obtenida es de $\langle v \rangle \sim 83.68nm/s$

Como primer resultado, para un *ensamble* con 100 trayectorias, obtuvimos una velocidad promedio de:

$$\langle v \rangle = \frac{\langle x \rangle}{t} \sim 83.68nm/s, \quad (4.22)$$

que coincide con los datos reportados en la literatura [11]. El ensamble de trayectorias se puede observar en la figura (4.17). Note que la velocidad se mantiene aproximadamente constante a lo largo de la trayectoria, tal como es reportado en los experimentos [11, 15]. En general, el valor promedio depende del número de elementos que utilizemos para calcularlo, sin embargo hay un límite en el cual este valor no cambia independientemente del número de elementos que usemos ya que la información del ruido estocástico está contenida en una función que genera números aleatorios con una distribución normal. Para estudiar el comportamiento de la posición promedio en función del número de trayectorias del ensamble, corrimos el programa varias veces utilizando

⁷por sus siglas en inglés: *mean square displacement*

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.5. TRAYECTORIAS: SEGUNDA APROXIMACIÓN

la misma partición pero variando el número de trayectorias calculadas lo cual podemos apreciar en la siguiente gráfica, y que se reporta con más detalle en la Tabla (4.1).

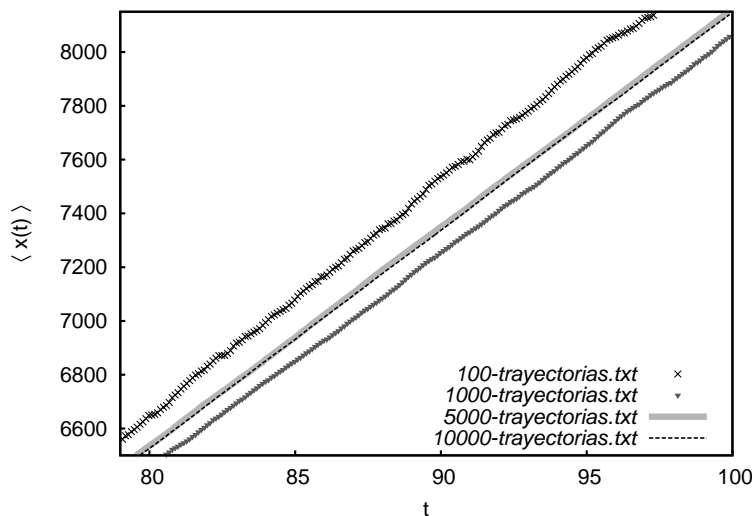


Figura 4.18: Gráfica que muestra las trayectorias promedio obtenidas para diferente número de trayectorias en el ensamble.

Trayectorias	$\langle v \rangle$ (nm/s)
100	83.6822568017
1000	80.6785257635
1300	81.1536816861
1500	81.2292430894
1800	81.4878148828
2000	81.6290855140
3000	81.0953111479
4000	81.2982331693
5000	81.6055176397
10000	81.4779923956

Tabla 4.1: Velocidad promedio en función del número de trayectorias del ensamble.

Note que para ensambles con más de 1300 trayectorias la velocidad promedio prácticamente no cambia, lo cual indica que el comportamiento de la posición es estable, de forma que no se necesita un gran número de elementos para tener un promedio correcto.

Otro comportamiento que analizamos en este trabajo fue el *msd* para diferentes intervalos de tiempos. Se sabe que el comportamiento difusivo para los sistemas conocidos como *random walk* se puede estudiar a través de un exponente crítico ν , definido de la siguiente forma [29]:

$$\langle x^2 \rangle \sim t^\nu \tag{4.23}$$

donde el parámetro ν determina el régimen difusivo del sistema:

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.5. TRAYECTORIAS: SEGUNDA APROXIMACIÓN

$$\nu = \begin{cases} < 1 & \text{sub-difusivo} \\ = 1 & \text{difusivo} \\ > 1 & \text{super-difusivo} \\ = 2 & \text{balístico} \end{cases}, \quad (4.24)$$

Para tener una interpretación más sencilla del exponente ν , tomamos el logaritmo de la expresión (4.23), a saber:

$$\log(\langle x^2 \rangle) = \log(a) + \nu \log(t) \quad (4.25)$$

de forma que tenemos una ecuación lineal en términos de $\log(t)$, siendo ν la pendiente de esta recta.

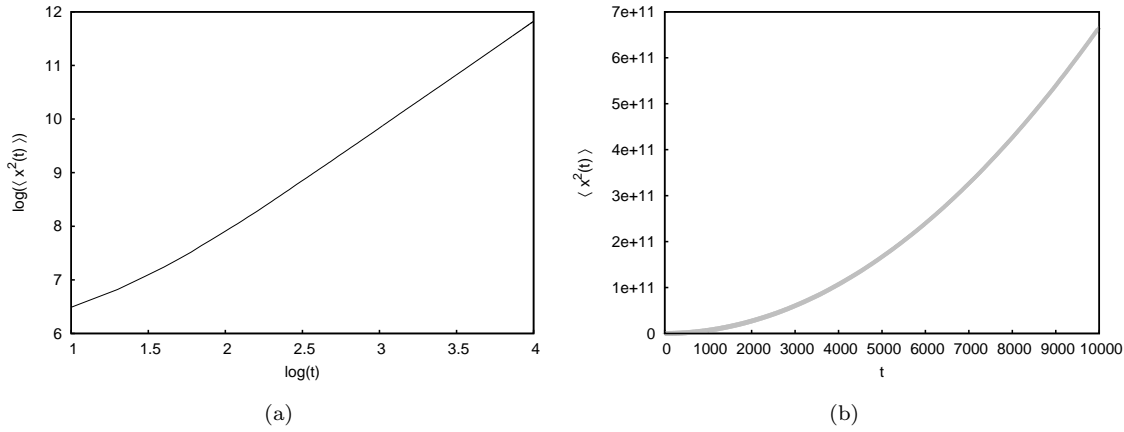


Figura 4.19: Gráfica del *msd* calculado para un tiempo total $t = 10000s$ y promediado sobre 100 trayectorias. Ambas gráficas muestran los mismos datos: (a) Gráfica de *msd* tomando el logaritmo de los datos para una interpretación más sencilla del parámetro ν que se puede modelar por la Ec. (4.25). (b) Gráfica del *msd*.

En la Fig.(4.19) se muestran las gráficas del *msd* obtenido para un tiempo total de $t = 10000s$ y promediando sobre 100 trayectorias. Este cálculo nos sirve como referencia para tener un panorama general del comportamiento del *msd* en función del tiempo; gráficamente el sistema presenta dos comportamientos, lo que nos sugiere estudiar el comportamiento difusivo para diferentes lapsos, los cuales básicamente podemos dividir en dos: *tiempos cortos* y *tiempos largos*. Note que la representación logarítmica es de gran utilidad, pues nos permite observar como cambia el valor de la pendiente ν en la Fig.(4.19 a).

Para *tiempos cortos* se corrió una vez más el programa para 2000 trayectorias, y un tiempo máximo $t = 100s$, y $h = 0.1$, obteniendo como resultado un comportamiento poco estable en el *msd*. Incluso repitiendo el cálculo ahora para 10000 trayectorias, $t = 30s$ y $h = 0.01$, el mismo comportamiento aún se manifestaba para tiempos por debajo de $\sim 1s$. Para tiempos posteriores el sistema comenzaba a volverse más estable como puede observarse en la figura (4.20), de forma que con estos datos se hizo un ajuste lineal de la ecuación (4.25) usando el algoritmo NLLS⁸. Debido a que el comportamiento del *msd* no es estable para tiempos cortos, se nos dificultó definir un

⁸ Por sus siglas en inglés: *Nonlinear least-squares*, de Marquardt-Levenberg, es el algoritmo estándar usado por el programa *gnuplot* para ajustar curvas, el cual también funciona para sistemas lineales.

intervalo de tiempo en el cual realizar el ajuste sin embargo, de manera general, podemos expresar el comportamiento del msd con un valor de ν representativo. Los valores obtenidos para el ajuste se muestran en la Tabla (4.2), con estos valores se obtuvieron los gráficos mostrados en la figura (4.20).

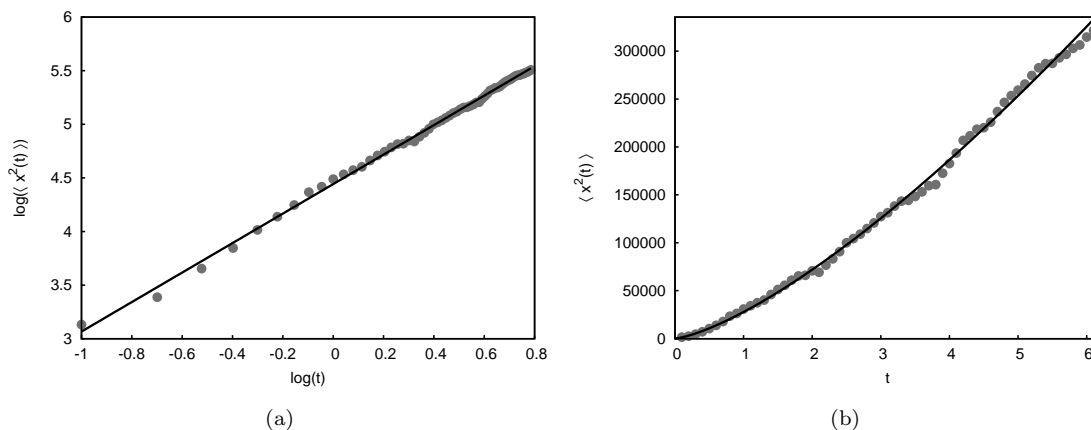


Figura 4.20: Gráfica del msd para *tiempos cortos*, con datos tomados de la Fig.(4.19). Ambas gráficas muestran el ajuste realizado con los valores mostrados en la Tabla(4.2): (a) Ajuste del msd a una recta de la forma Ec. (4.25). (b) Ajuste del logaritmo del msd a una función potencia de la forma Ec. (4.23).

Parámetro	Tiempos cortos		Tiempos largos	
	Valor	Error	Valor	Error
$\log(a)$	4.4424	± 0.00468	3.86572	± 0.0006685
ν	1.37557	± 0.008699	1.98905	± 0.0001814

Tabla 4.2: Valores de los parámetros de ajuste obtenidos por el algoritmo NLLS para diferentes intervalos de tiempo. Los errores obtenidos son menores al 0.5 %

Para *tiempos largos* se trabajó con los datos reportados en la figura (4.19). Ya que el comportamiento del msd es estable el ajuste realizado llevó a errores más pequeños que el caso anterior, en la figura (4.21) se muestran los resultados obtenidos con los valores de la Tabla (4.2).

Corriendo más veces el programa para particiones más finas cerca del origen, pudimos identificar el tiempo a partir del cual el sistema tiende a un comportamiento estable en el que ya no cambia el valor del parámetro ν , el cual es aproximadamente $t = 15s$, de manera que con estos valores podemos describir el comportamiento difusivo del sistema. Para tiempos cortos ($t < 1s$) el sistema es muy poco estable, y el parámetro ν cambia rápidamente, de forma que no podemos definir un intervalo fijo donde el exponente tenga un valor bien definido sin embargo, podemos observar de manera general que el sistema se comporta de forma super-difusiva siendo $\nu \sim 1.37 > 1$, mientras que para tiempos largos ($t > 15s$) el comportamiento del msd se vuelve estable, y tiende a un comportamiento balístico puesto que podemos afirmar que ⁹:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \langle x^2 \rangle \sim t^{1.98} \sim t^2. \quad (4.26)$$

⁹Tomando $t = 10000$ como el régimen en el que $t \rightarrow \infty$

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.5. TRAYECTORIAS: SEGUNDA APROXIMACIÓN

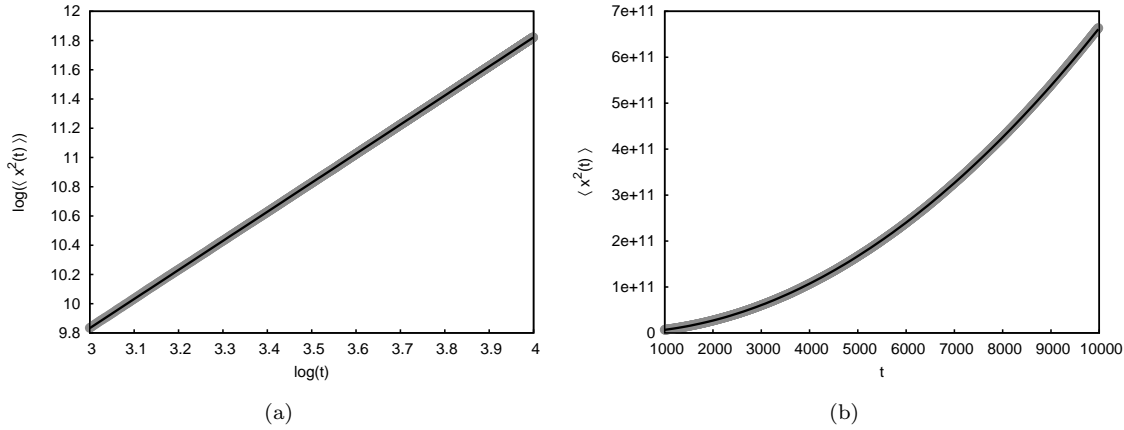


Figura 4.21: Gráfica del *msd* para *tiempos largos*, con datos tomados de la Fig.(4.19). Ambas gráficas muestran el ajuste realizado con los valores mostrados en la Tabla(4.2): (a) Ajuste del *msd* a una recta de la forma Ec. (4.25). (b) Ajuste del logaritmo del *msd* a una función potencia de la forma Ec. (4.23).

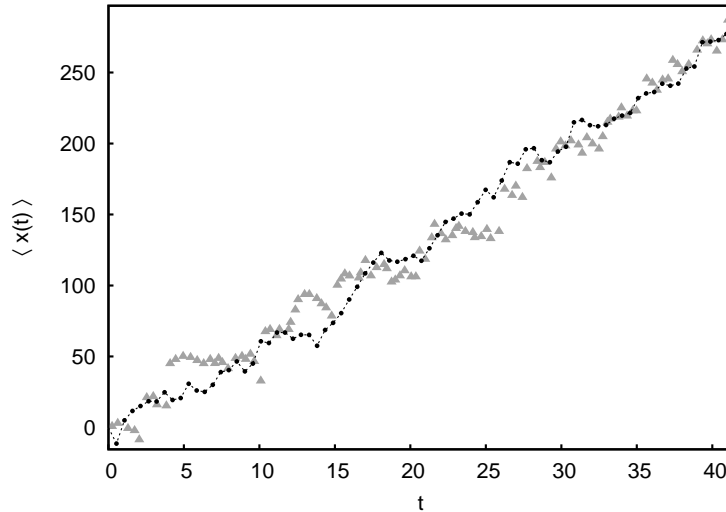


Figura 4.22: En negro se presenta el conjunto de datos *experimentales* reproducidos por nuestro algoritmo, mientras que los puntos en gris representan los resultados experimentales [13].

Una manera de probar la estabilidad de la solución fue intentar reproducir las trayectorias reportadas experimentalmente para las cinesinas, como es el caso de los datos mostrados en la figura (4.5). Mediante un software de gran utilidad llamado *Engauge-digitalizador*¹⁰ se pudieron conseguir los datos experimentales a partir del gráfico mostrado y, usando nuestro algoritmo bajo parámetros particulares obtuvimos los resultados reportados en la figura (4.18). Esto muestra que la aproximación dada por la ecuación (4.20) llega a ser un modelo muy preciso, pues no solo reproduce las velocidades promedio, sino también las trayectorias promedio reportadas experimentalmente, de forma que podemos controlar los parámetros para predecir un comportamiento determinado.

Por lo anterior tenemos que, mediante un modelo físico-químico usado para representar el

¹⁰Software de uso libre.

CAPÍTULO 4. LA CINESINA COMO UN MOTOR BROWNIANO
4.5. TRAYECTORIAS: SEGUNDA APROXIMACIÓN

potencial *ratchet*, en el que se tienen en cuenta las propiedades características de la cinética de la cinesina y todos los parámetros físicos asociados, podemos reconstruir el comportamiento típico de estos motores y solo es necesario buscar las constantes apropiadas que nos den la comparación con los resultados experimentales. Por lo que nuestro trabajo inmediato es ver si existen criterios por familia de proteínas que nos den las velocidades características a partir de estas formas funcionales.

Capítulo 5

Conclusiones

A lo largo de este trabajo se revisaron los modelos propuestos en la literatura actual para describir el comportamiento de los motores moleculares, los cuales tienen bases tanto físicas como bioquímicas. Parte de este análisis incluyó la revisión y entendimiento de las bases experimentales del modelo de Visscher y Schnitzer, modelo de seis pasos que permite entender cómo es que la cinesina se enlaza y desenlaza del microtúbulo en presencia de dos tipos de moléculas: el ADP y el ATP. A partir de este ciclo de seis pasos se puede construir un paisaje para la energía libre de Gibbs el cual resulta ser un potencial biestable, periódico y asimétrico. Al hacer un análisis de la ecuación de Mateos se sugiere usar un potencial periódico y asimétrico junto con un potencial biestable, que modele el acoplamiento entre ambas cabezas de la cinesina, modeladas cada una como un motor browniano; sin embargo la energía libre de Gibbs nos da, de forma natural, estas características necesarias para describir a los motores brownianos y que al mismo tiempo contiene la información de la interacción con el microtúbulo, lo que a su vez permitió trabajar solo con una ecuación diferencial, en lugar de dos ecuaciones diferenciales acopladas, que facilita los cálculos y el tiempo de computo, así como la interpretación del sistema.

Una de las dificultades que encontramos al abordar este problema fue que los parámetros físicos que aparecen en la ecuación diferencial, como el coeficiente de difusión y el coeficiente de movilidad, no aparecen reportados de manera directa en la mayoría de los casos, así que se hizo una revisión sobre el valor de estos parámetros dentro de la célula con el fin de que la ecuación de movimiento modelara de la mejor manera posible a una cinesina que se mueve a lo largo del microtúbulo en el interior de la célula; se hizo una propuesta para estos valores, junto con la amplitud del *rocking-force* y al introducirlos en el algoritmo computacional pudimos obtener resultados que eran similares a aquellos reportados de manera experimental, además de que pudimos reproducir las velocidades típicas para este tipo de sistemas (con velocidades reportadas del orden de 100nm/s).

Para analizar la estabilidad de la solución de la ecuación se hizo un análisis sobre el desplazamiento cuadrático medio para dicha ecuación, lamentablemente para tiempos cortos el comportamiento difusivo no puede ser descrito eficientemente; sin embargo para tiempos posteriores el comportamiento difusivo evoluciona en estos regímenes hasta que finalmente se estabiliza tendiendo al comportamiento balístico. Se sabe experimentalmente que la cinesina tarda entre 20 y 30 segundos unida al microtúbulo, sin embargo, si la cinesina permaneciera unida durante más tiempo al microtúbulo su comportamiento difusivo estaría en el régimen balístico, siendo más rápido su transporte que en el régimen normal. Lo cual muestra que estos sistemas, descritos por ecuaciones

tipo Langevin generalizada, tienden a un comportamiento en el *régimen balístico*, por lo que, podemos intuir que si fuéramos capaces de construir motores nonoscópicos tales que su movimiento estuviera determinado por este tipo de ecuaciones, seguramente seguiría este comportamiento para tiempos muy largos.

Finalmente se utilizó el algoritmo construido para reproducir algunas de las trayectorias típicas reportadas para las cinesinas, obteniendo resultados comparables a los experimentos, de esta forma podemos notar que las ecuaciones tipo Langevin son una herramienta matemática que permite reproducir los resultados observados experimentalmente, teniendo una solución estable con parámetros ajustables que pueden predecir el comportamiento de un motor molecular de manera efectiva (al menos para la cinesina); por otro lado se ha observado que este tipo de ecuación también se aplica para describir motores rotatorios, con lo que se deben considerar términos adicionales a la contribución de la fuerza. Por ello, este trabajo deja abierta la posibilidad al estudio de otro tipo de motores, ya sean lineales o rotatorios, de forma que puedan ser caracterizados en cuanto a sus propiedades dinámicas y bioquímicas.

Apéndice A

Leyes de conservación locales

A.1. Conservación de masa

En el análisis de medios continuos, cuando las funciones termodinámicas se vuelven densidades, es necesario trabajar con varias leyes de conservación. Para un sistema con n componentes entre las cuales pueden existir r reacciones químicas, el cambio de masa de componente k en un volumen dado debe ser igual a la suma del flujo del material de la componente k dentro del volumen V a través su superficie Ω y la producción total de k en reacciones químicas que ocurren dentro del volumen V :

$$\frac{d}{dt} \int^V \rho_k dV = - \int^{\Omega} \rho_k \mathbf{v}_k \cdot d\boldsymbol{\Omega} + \sum_{j=1}^r \int^V \nu_{kj} J_j dV, \quad (\text{A.1})$$

aplicando el teorema de Gauss a la ecuación anterior:

$$\frac{\partial \rho_k}{\partial t} = -\nabla \cdot \rho_k \mathbf{v}_k + \sum_{j=1}^r \nu_{kj} J_j. \quad (\text{A.2})$$

Ya que la masa se conserva en cada reacción química por separado, tenemos:

$$\sum_{k=1}^n \nu_{kj} = 0, \quad (\text{A.3})$$

de manera que al sumar la ecuación (A.2), y expresarla en términos de la derivada material, obtenemos la ecuación de masa:

$$\frac{D\rho}{Dt} = -\rho \nabla \cdot \mathbf{v}. \quad (\text{A.4})$$

O bien, en términos de la derivada material, el flujo de difusión $\mathbf{J}_k = \rho_k(\mathbf{v}_k - \mathbf{v})$ y la fracción de masa $c_k = \rho_k/\rho$, podemos reescribir la ecuación (A.2):

$$\rho \frac{Dc_k}{Dt} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_k + \sum_{j=1}^r \nu_{kj} J_j. \quad (\text{A.5})$$

Note que como consecuencia de la ecuación (A.3) y la definición de la derivada material, para cualquier propiedad local a se tiene la siguiente relación:

$$\rho \frac{Da}{Dt} = \frac{\partial a \rho}{\partial t} + \nabla \cdot a \rho \mathbf{v}. \quad (\text{A.6})$$

A.2. Ecuación de movimiento

La ecuación de movimiento puede escribirse a partir de la contribución de diferentes elementos al movimiento de nuestro sistema:

$$\rho \frac{Dv_\alpha}{Dt} = - \sum_{\beta=1}^3 \frac{\partial}{\partial x_\beta} P_{\alpha\beta} + \sum_{k=1}^n \rho_k F_{k\alpha}. \quad (\text{A.7})$$

Donde $P_{\alpha\beta}$ son las componentes cartesianas del tensor de presión P y $F_{k\alpha}$ es la fuerza por unidad de masa ejercida sobre la k -ésima componente del sistema. A partir de esta ecuación podemos escribir una ecuación de balance para la energía cinética del sistema. Si multiplicamos ambos lados de la ecuación por la componente v_α y sumamos sobre este índice:

$$\rho \frac{D\frac{1}{2}\mathbf{v}^2}{Dt} = - \sum_{\alpha,\beta} \frac{\partial}{\partial x_\beta} (P_{\alpha\beta} v_\alpha) + \sum_{\alpha,\beta} P_{\alpha\beta} \frac{\partial}{\partial x_\beta} v_\alpha + \sum_{k,\alpha} \rho_k F_{k\alpha} v_\alpha, \quad (\text{A.8})$$

o análogamente en notación tensorial:

$$\rho \frac{D\frac{1}{2}\mathbf{v}^2}{Dt} = -\nabla \cdot (\mathbf{P} \cdot \mathbf{v}) + \mathbf{P} : \nabla \mathbf{v} + \sum_k \rho_k \mathbf{F}_k \cdot \mathbf{v}. \quad (\text{A.9})$$

Que finalmente con ayuda de la Ec. (A.6) se escribe como:

$$\frac{\partial \frac{1}{2} \rho \mathbf{v}^2}{\partial t} = -\nabla \cdot \left(\frac{1}{2} \rho \mathbf{v}^2 \mathbf{v} + \mathbf{P} \cdot \mathbf{v} \right) + \mathbf{P} : \nabla \mathbf{v} + \sum_k \rho_k \mathbf{F}_k \cdot \mathbf{v}. \quad (\text{A.10})$$

Análogamente para el cambio en la energía potencial:

$$\frac{\partial \rho \psi}{\partial t} = -\nabla \cdot \left(\rho \psi \mathbf{v} + \sum_k \psi_k \mathbf{J}_k \right) - \sum_k \rho_k \mathbf{F}_k \cdot \mathbf{v} - \sum_k \mathbf{J}_k \cdot \mathbf{F}_k. \quad (\text{A.11})$$

A.3. Conservación de la energía

De acuerdo al principio de conservación de la energía, la energía total contenida dentro de un volumen arbitrario V puede cambiar solo si existe un flujo de energía que entra (o sale) del volumen total considerado a través de su superficie, que escrito en forma diferencial se expresa por:

$$\frac{\partial \rho e}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_e. \quad (\text{A.12})$$

La energía total específica e incluye la energía cinética específica $\frac{1}{2}v^2$, la energía potencial específica ψ y la energía interna u :

$$e = \frac{1}{2}v^2 + \psi + u, \quad (\text{A.13})$$

mientras que el flujo total de energía incluye una parte convectiva $\rho e \mathbf{v}$, un flujo de energía debido al trabajo mecánico realizado sobre el sistema $\mathbf{P} \cdot \mathbf{v}$, un flujo de energía potencial $\sum_k \psi_k \mathbf{J}_k$ y un flujo de calor \mathbf{J}_q :

$$\mathbf{J}_e = \rho e \mathbf{v} + \mathbf{P} \cdot \mathbf{v} + \sum_k \psi_k \mathbf{J}_k + \mathbf{J}_q. \quad (\text{A.14})$$

Con ayuda de las Ecs. (A.10), (A.11), (A.13) y (A.14) podemos escribir la ecuación (A.12) como:

APÉNDICE A. LEYES DE CONSERVACIÓN LOCALES
A.3. CONSERVACIÓN DE LA ENERGÍA

$$\frac{\partial \rho u}{\partial t} = -\nabla \cdot (\rho u \mathbf{v} + \mathbf{J}_q) - \mathbf{P} : \nabla \mathbf{v} + \sum_k \mathbf{J}_k \cdot \mathbf{F}_k. \quad (\text{A.15})$$

Si además expresamos al tensor de presión como la suma de una parte escalar hidrostática y otra parte tensorial $\mathbf{P} = p\mathbf{U} + \Pi$ y usando las expresiones para la derivada material, con ayuda de (A.6) podemos reescribir la ecuación (A.15) como:

$$\frac{Du}{Dt} = -\frac{\nabla \cdot \mathbf{J}_q}{\rho} + \frac{p}{\rho^2} \frac{D\rho}{Dt} - \frac{1}{\rho} \Pi : \nabla \mathbf{v} + \frac{1}{\rho} \sum_k \mathbf{J}_k \cdot \mathbf{F}_k. \quad (\text{A.16})$$

Apéndice B

Teorema de fluctuación-Disipación

En la ecuación de Langevin, Ec. (3.4), aparecen básicamente dos contribuciones a la fuerza, la fuerza de fricción $-m\gamma\dot{x}$ y la fuerza estocástica $f_R(t)$. Gracias a la linealidad de esta ecuación diferencial, podemos resolver esta ecuación por un método conocido como el análisis armónico, que expresa los procesos estocásticos involucrados como una superposición de funciones oscilatorias mediante la transformada de Fourier para cada proceso. Este análisis nos permite conocer la matriz de densidad espectral del proceso $S(\omega)$, la cual a su vez se relaciona con la función de correlación $\phi(t)$ mediante el teorema de Wiener-Khinchine, lo que finalmente nos lleva a un resultado muy importante: la correlación para la fuerza estocástica $f_R(t)$ es proporcional al coeficiente de fricción γ y a la energía térmica $k_B T$. También en el trabajo de Einstein sobre el movimiento browniano se muestra la relación de la constante de difusión que observamos macroscópicamente con las fluctuaciones inducidas microscópicamente, que son del orden de $\sim kT$:

$$D = \frac{kT}{m\gamma}, \quad (\text{B.1})$$

que nuevamente exhibe que el fenómeno de disipación está ligado a las fluctuaciones en equilibrio térmico del sistema. Estos dos resultados son ejemplos de un teorema más general: el teorema de fluctuación-disipación, el cual es una de las bases de la mecánica estadística para sistemas fuera de equilibrio, el cual desarrollaremos a continuación [18, 27].

En la ecuación de Langevin clásica se asume que la fricción está determinada por la velocidad instantánea de la partícula, si denotamos $\dot{x} = u$, ésta se escribe como:

$$\frac{du(t)}{dt} = -\gamma u(t) + \frac{1}{m} f_R(t). \quad (\text{B.2})$$

donde la fuerza estocástica satisface la siguiente condición:

$$\langle f_R(t) \rangle = 0. \quad (\text{B.3})$$

Ahora bien, mediante el análisis armónico, podemos escribir la transformada de Fourier para $f_R(t)$ y u , obteniendo las siguientes expresiones:

$$f_R(t) = \int_{-\infty}^{\infty} f_R(\omega) e^{i\omega t} d\omega, \quad (\text{B.4})$$

APÉNDICE B. TEOREMA DE FLUCTUACIÓN-DISIPACIÓN

$$u(t) = \int_{-\infty}^{\infty} u(\omega) e^{i\omega t} d\omega, \quad (\text{B.5})$$

al sustituir dentro de la ecuación (B.2) y factorizando el operador integral, se llega al siguiente resultado:

$$u(\omega) = \frac{1}{i\omega + \gamma} \frac{f_R(\omega)}{m}. \quad (\text{B.6})$$

Por otro lado, la densidad espectral del proceso u está determinada por:

$$I_u(\omega) = \lim_{\omega \rightarrow 0} \langle |u(\omega)|^2 \rangle, \quad (\text{B.7})$$

y análogamente para el proceso estocástico f_R , lo que nos lleva al siguiente resultado:

$$I_u(\omega) = \frac{1}{m^2} \frac{I_R(\omega)}{\omega^2 + \gamma^2}. \quad (\text{B.8})$$

Para un proceso en el cual I_R no depende de la frecuencia, tenemos:

$$I_R(\omega) = I_R = \text{const.} \quad (\text{B.9})$$

que es llamado un proceso con ruido *blanco*. Por otro lado, el teorema de Wiener-Khinchine nos permite relacionar la función de correlación del proceso estocástico con la matriz de densidad espectral, de forma que:

$$I(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \phi(t) e^{-i\omega t} dt, \quad (\text{B.10})$$

$$\phi(t) = \int_{-\infty}^{\infty} I(\omega) e^{i\omega t} d\omega. \quad (\text{B.11})$$

Para este caso particular, de acuerdo a las ecuaciones (B.9) y (B.11), la función de correlación se expresa como:

$$\phi_R(t - t') = \langle R(t)R(t') \rangle = 2\pi I_R \delta(t - t'). \quad (\text{B.12})$$

Análogamente para el proceso u , de la ecuación (B.8) tenemos:

$$\phi_u(t - t') = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{e^{i\omega t}}{\omega^2 + \gamma^2} \frac{I_R}{m^2} \cdot d\omega. \quad (\text{B.13})$$

La solución de esta integral se puede obtener aplicando el teorema integral de Cauchy, teniendo como resultado:

$$\phi_u(t - t') = \frac{\pi I_R}{m^2 \gamma} e^{-\gamma|t-t'|}, \quad (\text{B.14})$$

de acuerdo al principio de equipartición de la energía se tiene que:

$$m \langle u^2 \rangle = kT, \quad (\text{B.15})$$

de donde finalmente se tiene:

$$I_R(\omega) = \frac{m\gamma kT}{\pi}, \quad (\text{B.16})$$

APÉNDICE B. TEOREMA DE FLUCTUACIÓN-DISIPACIÓN

es decir:

$$\langle R(t)R(t') \rangle = 2m\gamma kT\delta(t-t'). \quad (\text{B.17})$$

Para un caso más general en el que el coeficiente de fricción es una función respuesta, se puede comprobar que es análogo a introducir un ruido que dependa de la frecuencia ω , y el teorema de *fluctuación-disipación* establece que:

$$\langle R(t)R(t') \rangle = mkT\gamma(t-t'). \quad (\text{B.18})$$

Este resultado nos indica que si el ruido debido a la fuerza estocástica f_R depende de la frecuencia ω , contrario al caso del “ruido blanco”, las fluctuaciones en esta fuerza están determinadas por un coeficiente de fricción retardado, es decir, el coeficiente de fricción no está determinada por la velocidad instantánea, sino que se convierte en una función respuesta [18].

Apéndice C

Métodos Numéricos

Generalmente, para describir todas las contribuciones que modifican el comportamiento de un sistema se usan ecuaciones diferenciales, como lo es la ecuación de Newton para la fuerza que toma en cuenta la sumatoria de todas las fuerzas que actúan sobre el sistema, las leyes de conservación de masa, carga, energía, entre otros ejemplos. Resolver estas ecuaciones diferenciales en física depende de la capacidad del investigador para hallar un método efectivo, ya sea por cambio de variable, expansión en series, entre otros métodos. Sin embargo, los métodos numéricos han mostrado ser una herramienta poderosa para resolver ecuaciones diferenciales a las que no se les ha encontrado una solución analítica por algún otro método, y también muestran una correspondencia al momento de comparar las soluciones analíticas con resultados numéricos. Por ello, introduciremos algunos algoritmos numéricos para resolver sistemas de ecuaciones diferenciales de primer orden con condición inicial dada.

C.1. Ecuaciones diferenciales de segundo grado

Muchas veces en física (y otras ramas) aparecen ecuaciones diferenciales de segundo orden, sin embargo éstas fácilmente pueden ser llevadas a un sistema de dos ecuaciones diferenciales.

Imaginemos que tenemos una ecuación diferencial de segundo grado del tipo:

$$\frac{d^2x}{dt^2} = f\left(\frac{dx}{dt}, x, t\right), \quad (\text{C.1})$$

siendo x una función del tiempo $x(t)$ y f una función de x , su primera derivada temporal y el tiempo. Dicha ecuación se puede convertir en un sistema de dos ecuaciones diferenciales de primer orden. Si proponemos el cambio de variable:

$$y = \frac{dx}{dt}, \quad (\text{C.2})$$

tenemos entonces que la ecuación (C.1) se puede reescribir como un sistema de ecuaciones lineales:

$$\frac{dy}{dt} = f(x, y, t) \quad (\text{C.3})$$

$$\frac{dx}{dt} = y. \quad (\text{C.4})$$

De esta forma podemos alternar en trabajar con una ecuación diferencial de segundo orden o un sistema de dos ecuaciones diferenciales de primer orden.

C.2. Método de Euler

Para resolver este tipo de ecuaciones diferenciales existen algunos métodos discretos de integración numérica, como por ejemplo el método de Euler, que se puede aplicar para resolver ecuaciones diferenciales de primer orden:

$$\frac{dx}{dt} = f(x, t) \tag{C.5}$$

con condición inicial $x(t_0) = x_0$. El fundamento geométrico se puede expresar como sigue: ya que la derivada de x con respecto de t nos puede dar el valor de la pendiente en un punto, podemos conocer el valor de la pendiente en el punto inicial, con el cual se aproxima el valor de la función en un intervalo dt , que conlleva un pequeño error, pero nos permite conocer aproximadamente el siguiente punto de la curva. Nuevamente, el punto encontrado, se asume como perteneciente a la curva, de modo que ahora éste se toma como condición inicial y se repite el procedimiento hasta obtener la solución de la ecuación en el intervalo deseado.

Matemáticamente esto se puede hacer como sigue. Primeramente se hace una partición uniforme de longitud h desde un valor inicial t_0 hasta un valor final t_n :

$$h = \frac{t_n - t_0}{n}, \tag{C.6}$$

de modo que para dos puntos consecutivos, se tiene que:

$$h = t_i - t_{i-1}; \quad i = 1, \dots, n, \tag{C.7}$$

de esta forma tenemos un conjunto discreto de puntos, definidos por los pares de valores $\{x_0, x_1, \dots, x_n\}$ y $\{t_0, t_1, \dots, t_n\}$. Note que a partir de la ecuación anterior, se cumple que, para el primer punto, la ecuación diferencial se expresa como:

$$\frac{x_1 - x_0}{t_1 - t_0} = f(x_0, t_0), \tag{C.8}$$

despejando para x_1 :

$$x_1 = f(x_0, t_0)h + x_0. \tag{C.9}$$

Ahora tenemos la coordenada del siguiente punto P_1 , y tomamos como referencia éste para obtener el siguiente punto en la sucesión, de forma que se obtienen las siguientes aproximaciones para cada P_n :

$$\begin{aligned} x_1 &= f(x_0, t_0)h + x_0 \\ x_2 &= f(x_1, t_1)h + x_1 \\ &\dots \\ x_n &= f(x_{n-1}, t_{n-1})h + x_{n-1}. \end{aligned} \tag{C.10}$$

Como podemos ver, éste no es un método muy preciso, ya que el error se va acumulando en cada paso que se da, y aproximadamente se comporta como $\epsilon \sim O(h)$

C.3. Método de Runge-Kutta

En esencia el método de Runge-Kutta es una generalización de la forma básica de Euler:

$$x_{i+1} = f(x_i, t_i)h + x_i, \quad (\text{C.11})$$

donde el valor de la función se sustituye por un promedio ponderado de los valores de f dentro del intervalo $[t_i, t_{i+1}]$, es decir:

$$x_{i+1} = \left(\sum_{j=0}^m a_j k_j \right) h + x_i, \quad (\text{C.12})$$

donde los a_j son constantes normalizadas:

$$\sum_{j=0}^m a_j = 1, \quad (\text{C.13})$$

y k_j es la función evaluada en un punto del intervalo. El número m define el orden del método y es igual a número de términos que se utilizan en el promedio. Para hallar las constantes a_j se hace una expansión en serie de Taylor de la función $y(t)$ al rededor del punto t_i y se evalúa en el punto t_{i+1} .

El método de Runge-Kutta de cuarto orden es conocido como el método de Runge-Kutta clásico, abreviado como *RK4*, y se puede mostrar, siguiendo el desarrollo anterior que se escribe como:

$$\begin{aligned} k_1 &= hf(t_i, x_i) \\ k_2 &= hf\left(t_i + \frac{h}{2}, x_i + \frac{1}{2}k_1\right) \\ k_3 &= hf\left(t_i + \frac{h}{2}, x_i + \frac{1}{2}k_2\right) \\ k_4 &= hf(t_i + h, x_i + k_3) \end{aligned} \quad (\text{C.14})$$

y la iteración para el siguiente punto se escribe como:

$$x_{i+1} = x_i + \frac{1}{6}(k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4). \quad (\text{C.15})$$

Este método lleva a un error local del orden $O(h^5)$ y un error global del orden $O(h^4)$, lo cual lo hace un método más reconocido a la hora de resolver ecuaciones diferenciales.

Note que el método de Runge-Kutta de primer orden coincide con el método de Euler. Por otro lado, aunque para una mejor aproximación se debería utilizar un orden más alto de esta aproximación, con el método *RK4* es suficiente para la mayoría de los casos, dependiendo de la forma de la función.

Bibliografía

- [1] L. García-Colín, *Tópicos Selectos de Biofísica, Capítulo 6: Estructura y función de las proteínas*, El Colegio Nacional, México (2012).
- [2] J. Claycomb, J. Quoc P. Train, *Introductory Biophysics: perspectives on the living state*, Jones and Bartlett Publishers, USA (2011).
- [3] D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger: Principles of Biochemistry*, 6th Ed, W. H. Freeman and Company, New York, (2013).
- [4] R. Chang, *Fisicoquímica: para las ciencias químicas y biológicas*, 3ra. Edición, McGraw-Hill, México, (2008).
- [5] M. V. Volkenshtein, *Biofísica*, Editorial MIR, Moscú, (1985).
- [6] L. García-Colín, L. Dagdug, M. Picquart, E. Vázquez, *Introducción a la Física Biológica*, Tomo 2, El Colegio Nacional, México, (2010).
- [7] P. C. Nelson, *Física Biológica: Energía, Información, Vida*, Reverte, Barcelona España, (2005).
- [8] R. P. Gomez Álvarez, *Biología Celular*, 3ra. Edición, McGraw-Hill, España, (2007).
- [9] N. J. López Alamilla, *Tesis de Licenciatura UNAM*, México, (2011).
- [10] J. D. Valencia, *Motores Moleculares: bases estructurales para diversas funciones celulares*, en *Introducción a la Física Biológica*, Tomo 2, El Colegio Nacional, México, (2010).
- [11] J. Howard, *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*, Sinauer Associates, Inc., (2001).
- [12] M. G. L. van der Heuvel, C. Dekker, *Motor Proteins at Work for Nanotechnology*, Science, **317**, 33-336, (2007).
- [13] A. Yildiz, M. Tomishige, R. D. Vale, P. R. Silven, *Kinesin Walks Hand-Over-Hand*, Science, **303**, pp. 676-678, (2004).
- [14] J. L. Mateos, *Motores Moleculares*, en *Introducción a la Física Biológica*, Tomo 1, L. García-Colín, L. Dagdug, M. Picquart, E. Vázquez, El Colegio Nacional, México, (2010).
- [15] I. Santamaría Holek, *Termodinámica Moderna: Teoría de no Equilibrio con enfoque multidisciplinario*, Editorial Trillas, México, (2014).

- [16] K. Visscher, M. J. Schnitzer, S. M. Block, *Single kinesin molecules studied with a molecular force clamp*, Nature **400**, pp. 184–189, (1999).
- [17] D. Kondepudi, I. Prigogine, *Modern Thermodynamics: From Heat Engines to Dissipative Structures*, John Wiley and Sons, (2002).
- [18] S. R. De Groot, P. Mazur, *Non-equilibrium Thermodynamics*, Dover Publications, New York, (1984).
- [19] A. Einstein, *Investigation on the theory of the brownian movement*, Ed. Dover, New York, (1956).
- [20] K. Huang, *Lectures on Statistical Physics and Protein Folding*, World Scientific Printers, Massachusetts, (2005).
- [21] R. B. Case, S. Rice, C. L. Hart, B. Ly, R. D. Vale, *Role of the kinesin neck linker and catalytic core in microtubule-based motility*, Current Biology, **10**, 157–160, (2000).
- [22] J. L. Mateos, *A random walker on a ratchet*, Physica A: Statistical Mechanics and its Applications **351**, 79-87, (2005).
- [23] R. Feynman, *Lectures in Physics*, Vol. 1, sec 46, (1963).
- [24] R. H. Dittman, M. W. Zemansky, *Heat and Thermodynamics*, McGraw-Hill (1997).
- [25] N. J. López Alamilla, I. Santamaría Hólek, *Biochemical physics modeling of biological nanomotors*, AIP Conf. Proc, **1579**, 102-111, (2014).
- [26] N. J. López Alamilla, I. Santamaría Hólek, *Reconstructing the free-energy landscape associated to molecular motors processivity*, Biophysical Chemistry **167**, pp. 16-25, (2012).
- [27] R. Kubo, M. Toda, N. Hashitume, *Statistical Physics II*, 2nd Ed, Sprienger, New York (1991).
- [28] A. Grimm, H. Stark, J. R. C. van der Maarel, *Model for a Brownian ratchet with improved characteristics for particle separation*, Physical Review E **79**, (2009).
- [29] Patrici Molinàs-Mata, M. A. Muñoz, Daniel O. Martínez, Albert-László Barabási, *Ballistic Random Walker*, Physical Review E **54**, pp. 968-961, (1996).
- [30] J. Blumm, A. Lindemann, *Characterization of the thermophysical properties of molten polymers and liquids using the flash technique*, High Temperatures - High Pressures **35**, 627-632, (2007).
- [31] Y. A. Cengel, M. A. Boles, *Thermodynamics: An Engineering Approach*, 8th Edition, McGraw-Hill, (2014).
- [32] H. Pin Kao, James R. Abney, A. S. Verkman, *Determinants of the Translational Mobility of a Small Solute in Cell Cytoplasm*, The Journal of Cell Biology **120**, 175-184, (1993).
- [33] A. S. Verkman, *Solute and macromolecule diffusion in cellular aqueous compartments*, TRENDS in Biochemical Sciences **27**, 27-33, (2002).
- [34] G. K. Batchelor, *An Introduction to Fluid Dynamics*, Cambridge University Press, New York, (2002).