

Brownske bevægelser og mikroorganismers motilitet

Henrik Flyvbjerg¹, David Selmecki^{1,2}, Peter H. Hagedorn¹ og Niels B. Larsen¹,

¹ Afd. for Biosystemer og Dansk Polymercenter, Forskningscenter Risø

² Afd. for Biologisk Fysik, Eötvös Loránd University, Budapest, Ungarn

Hvis det bevæger sig, er det levende?

Einsteins teori for Brownske bevægelser har fundet anvendelse mange andre steder i fysik, kemi og biologi hvor tilfældige fluktuationer forekommer¹. Fluktuationerne behøver ikke være af termisk oprindelse. Modeller for mikroorganismers og isolerede cellers motilitet² er et godt eksempel, der er næsten lige så gammelt som Einsteins teori. At de to former for bevægelse er nært beslægtede, ses af den misforståelse der oprindeligt herskede om Brownske bevægelser.

Da den skotske botaniker Robert Brown i sommeren 1827 studerede hvad der skulle blive kendt som "Brownske bevægelser," troede han først at de pollen-korn, han så på, bevægede sig af egen kraft og at han i dem havde fundet "livets molekyle" [1]. Han *opdagede* ikke bevægelserne som fik hans navn; de var et kendt irritationsmoment for alle der mikroskoperede i væsker. Forestillingen om at de var en livsytring var udbredt, men andre var før ham kommet til den konklusion som han selv ret hurtigt drog: Det er de ikke. Bevægelserne blev opkaldt efter ham fordi *hans* undersøgelse af dem var særligt grundig. Den rejste for alvor problemet med at forklare disse bevægelseres natur. Men efter Brown var dette problem fysikernes.

Einstein publicerede sin model for Brownske bevægelser i 1905, men i 1913 viste biologen Przibram at Einsteins teori for Brownske bevægelser også beskriver protozoers tilfældige måde at svømme omkring på [2]. Ved at optegne de enkelte protozoers trajektorier $\vec{x}(t)$, see Fig. 1, viste Przibram at nettoafstanden $\vec{d}(t) \equiv \vec{x}(t) - \vec{x}(0)$ som protozoer bevæger sig, midler til nul, og dens kvadrat opfylder formelen kendt fra diffusion,

$$\langle \vec{d}(t)^2 \rangle = 2n_{\text{dim}}Dt, \quad (1)$$

hvor n_{dim} er dimensionen af det rum i hvilket bevægelsen finder sted. I Einsteins teori er D diffusionskoefficienten, og opfylder hans berømte identitet,

$$D = k_B T / \gamma, \quad (2)$$

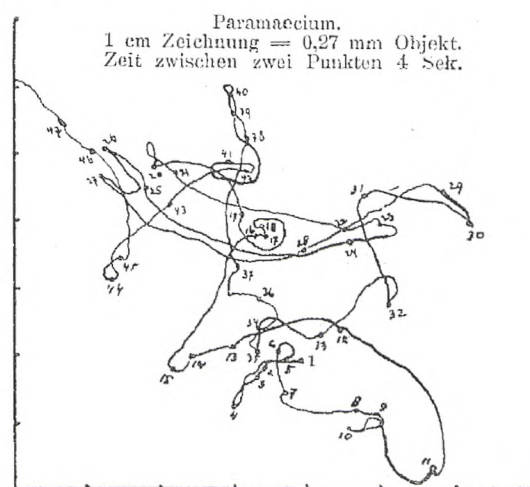
med k_B Boltzmann's konstant, T den absolutte temperatur, og $\gamma = 6\pi\eta a$ Stokes' friktionskoefficient for den Brownske partikel. Her er a partiklens radius og η er vands dynamiske viscositet ved temperaturen T .

¹ Børskurser fluktuerer også, men i finans-matematik kom andre først med matematisk samme teori: T. N. Thiele i København, 1880, og L. Bachelier i Paris, 1900.

² Motilitet = evnen til at bevæge sig af egen kraft, bevægelsen selv. Sml. *mobilitet* = flytbarhed, ved egen eller andres kraft.

Przibram fandt en værdi for D som var meget større og meget mere temperaturfølsom end Einsteins resultat (2) tilsiger. Det brugte han som bevis for at det faktisk *var* motilitet, og ikke Brownske bevægelser, han havde observeret.

Hvis Przibram havde målt med bedre tidsopløsning ved at tegne flere punkter ind i Fig. 1, kunne han også havde taget næste skridt i teoriens udvikling. Man bemærker nemlig at trajektoriet i Fig. 1 virker differentiabelt med kontinuert afledte, og *ikke* er fraktalt som trajektorier i Einsteins teori. Men næste skridt blev taget af fysikere.



Figur 1. Eksempel på Przibrams motilitetsdata, trajektorie for protozo fra [2].

Fra matematisk analogi til standard-model

Einstein antog i sin modellering af Brownske bevægelser at den inertielle masse af kolloide partikler kan negligeres; se [8]. Smoluchowski rejste i 1916 spørgsmålet om hvordan inert i ville ændre på (1). Fürth [5] og Ornstein [6] besvarede dette spørgsmål uafhængigt af hinanden [7], og fandt at (1) erstattes af

$$\langle \vec{d}(t)^2 \rangle = 2n_{\text{dim}}D(t - P(1 - e^{-t/P})) , \quad (3)$$

hvor P kaldes *persistence time* på engelsk, og karakteriserer den tid som en given hastighed "huskes" af en Brownisk partikel eller motil organisme.

Fürth, en fysiker ved Det Tyske Universitet i Prag, hvor Einstein havde været professor i 1911-12, studerede protozoers bevægelser som Przibram, og gentog i

første omgang Przibrams resultat, tilsyneladende uden at kende det [4]. Senere fandt Fürth at hans data *ikke* var beskrevet af (1). Han udstyrede derfor en random walker på et gitter med "vedholdenhed" (persistence) ved at indføre en tendens til at næste skridt foretages i det foregående skridts retning. Det gav (3) i kontinuumsgrænsen for gitter-resultatet, og denne ligning beskrev hans data for protozoer [5].

Ornstein løste Langevin's ligning fra 1908 (ligning (1) i [8]), siden kendt som Ornstein-Uhlenbeck (OU) processen. Dens løsning giver også (3), med $P \equiv m/\gamma$. I modsætning til Fürths teori, beskriver OU-processen en kontinuert bevægelse i rum og tid. Den fysiske tolkning af OU-processens tre led har ganske vist ingen mening for celler. Deres hastigheder måles i *mikrometer per time*, så deres inertielle masse betyder absolut intet for deres bevægelse, friktion med omgivelserne heller intet, og det er ikke termiske kræfter der accelererer celler. Men som matematisk model er OU-processen den simplest mulige af sin art, som den harmoniske oscillator, brintatomet og Ising-modellen. Dertil passede den med de tidligste data. Så OU-processen blev standard-modellen for motilitet. Vi kan skrive den

$$P \frac{d\vec{v}}{dt} = -\vec{v} + \sqrt{2D} \vec{\eta} , \quad (4)$$

hvor hver komponent af $\vec{\eta}$ er en ukorreleret, normeret hvid støj,

$$\langle \vec{\eta}(t) \rangle = \vec{0} ; \quad \langle \eta_j(t') \eta_k(t'') \rangle = \delta_{j,k} \delta(t' - t'') . \quad (5)$$

Her er $\delta(t)$ Diracs delta-funktion, og $\vec{\eta}(t)$ antages også ukorreleret med $\vec{v}(t')$ for $t \geq t'$. Fürths formel, (3), kan udledes af (4) og (5), men fås også i visse andre, beslægtede teorier. Den var ofte det eneste aspekt af teorien som afprøvedes på eksperimentelle data, og med god grund, datidens forhold taget i betragtning.

Gail og Boone (1970) er nok de første som modellerede celle-motilitet med (3). De gennemførte et tidsstudie af fibroblaster fra mus ved at måle celle-positioner hver 2.5 time. De fittede deres resultater rimeligt godt med (3). Siden da er celle-motilitets-data rutinemæssigt blevet fitted med (3). Denne lignings overensstemmelse med data kan være imponerende og er som regel tilfredsstillende—nogle gange begrundet i størrelsen af eksperimentelle fejl og for få målepunkter til tider t der er sammenlignelige med P . Data med denne egenskab kan ikke skelne (3) fra andre funktioner som hurtigt nærmer sig $2n_{\text{dim}}D(t - P)$.

Differentierer man (3) to gange, får man i stedet hastighedskorrelationsfunktionen frem,

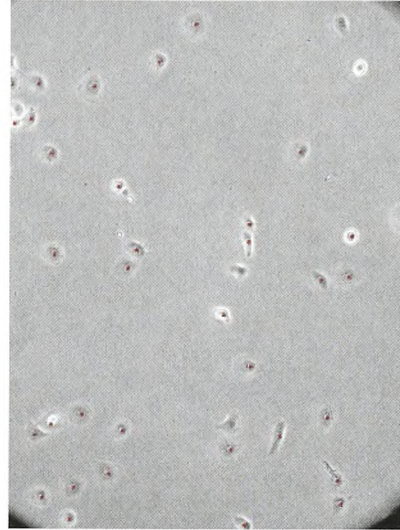
$$\phi(t) = \langle \vec{v}(0) \cdot \vec{v}(t) \rangle = \frac{n_{\text{dim}}D}{P} e^{-|t|/P} . \quad (6)$$

Eksperimentelle resultater for hastighedskorrelationsfunktionen er mere velegnede til at vise om OU-processen kan være en rimelig model for givne data.

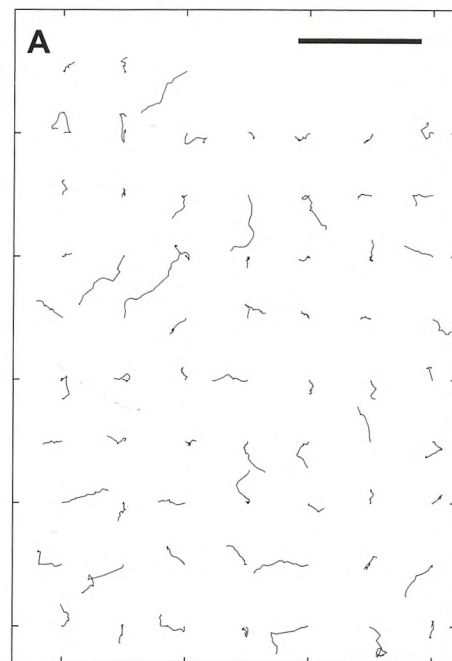
Men eksperimentelle resultater for hastigheder beregnes som forskelle mellem målte positioner. Det giver et tab af nøjagtighed, der stiller krav til eksperimentel præcision og statistik, som man dårligt kunne opfylde før computer tracking blev udbredt.

Computerne kommer på scenen

Da vi for nylig ville karakterisere humane cellers motilitet på forskellige overflader gav computer tracking (Fig. 2) os så mange data at vi var i en ny situation



Figur 2A. Isolerede humane overhudceller (keratinocytter) kravler naturligt rundt og leder efter andre celler af samme slags som de kan hægte sig sammen med. For hvis de ikke er omgivet af naboceller "tror" de at de er nabo til et sår, og de er fra naturens side programmeret til på den måde at hele sår når de opstår. Hver celledes position er blevet markeret med en prik midt i cellekernen. Positionerne fotograferes hvert 15 min. for at følge cellernes trajektorier.



Figur 2B. Trajektorier som de viste udgør de rå data man undersøger statistisk for at finde en passende stokastisk model for keratinocytters motilitet. Den sorte bjælke er 0.2 mm lang.

m.h.t. modellering: Vi var ikke henvist til at undersøge om en models konsekvenser stemmer med data. Vi kunne undersøge modellen *selv* i alle dens led, og inden vi gjorde det, kunne vi først undersøge om antagelserne som modellen bygger på, er opfyldt. Vi fandt at cellerne opførte sig konsistent med antagelsen om at deres omgivelser var isotrope, homogene og konstante i tid. Dermed kunne vi tillade os at midle måleresultater over alle retninger, steder og tidspunkter. Det gav bedre statistik i en undersøgelse af teorien selv.

“One size fits all” erstattes med skræddersyet teori

Teorien i (4) siger at for en given hastighed $\vec{v}$ har man i

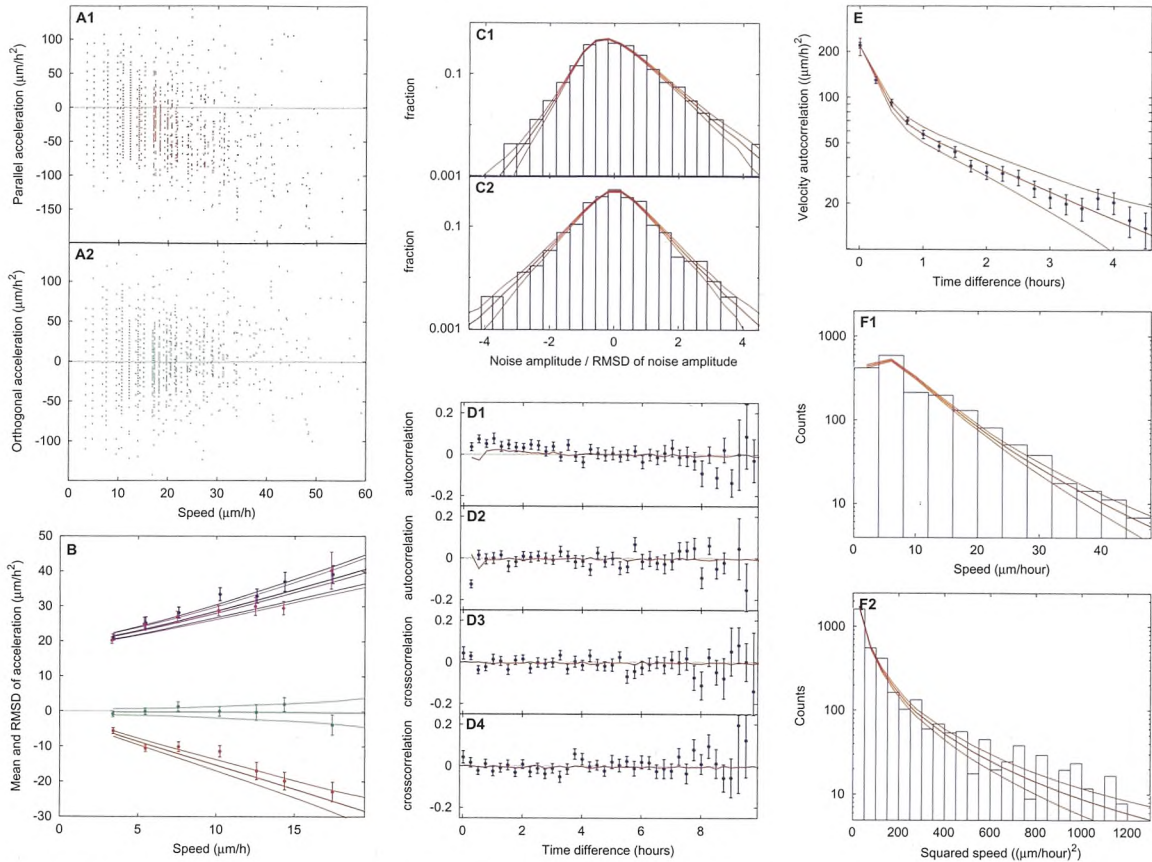
middel en acceleration der er proportional med $\vec{v}$,

$$\left\langle \frac{d\vec{v}}{dt} \right\rangle_{\vec{v}} = -\vec{v}/P . \quad (7)$$

Figur 3AB viser at dette faktisk også er tilfældet for de eksperimentelle data. Teorien i (4) siger også at

$$\frac{d\vec{v}}{dt} - \left\langle \frac{d\vec{v}}{dt} \right\rangle_{\vec{v}} = \frac{d\vec{v}}{dt} + \vec{v}/P = \sqrt{2D}\vec{\eta} , \quad (8)$$

altså at denne størrelse i OU-teorien er en hvid støj med samme hastigheds-uafhængige amplitude i alle retninger.



Figur 3. Statistik opsamlet fra trajektorier som de der er vist i Fig. 2B. **A:** Accelerationens to komponenter som funktion af farten. Panel A1/A2 viser accelerationen parallel med/ortogonal på hastigheden. De to funktioner er ikke funktioner i gængs forstand, men er i overensstemmelse med ligning (4), hvis graf ikke er en kontinuert kurve, men et scatter-plot hvor “scatter” kommer fra $\eta(t)$. **B:** Middelværdi og standard afvigelse som funktion af farten for data vist i Panel A. Røde og grønne datapunkter er middelværdier for røde og grønne data i Panel A. Lilla og magenta datapunkter er tilsvarende standardafvigelser. Datapunkterne viser matematiske egenskaber ved den teori for data vi søger. Kurverne gennem datapunkterne er de samme størrelser, plus/minus én standardafvigelse, beregnet med den endelige teori, givet i (9). **C:** Histogrammer af scatter vist i A, målt i forhold til middelværdierne vist i B, og i enheder af standardafvigelserne vist i B. De viste kurver er ikke fits til de viste data, men resultat af (9). **D:** Korrelationsfunktioner for scatter vist i A. D1 og D2 viser autokorrelationen for de to komponenter, D3 og D4 viser komponenternes korrelation med hinanden, for positiv og negativ tidsforskel. De mange viste værdier er næsten alle uskelnelige fra nul. Derfor er det berettiget at modellere scatter i data med en ukorreleret støj som i (5). Det er et eksperimentelt resultat for den teori vi søger. **E:** Autokorrelationsfunktionen for hastigheder, beregnet fra trajektorier som vist i Fig. 3B. Den er ikke en simpel eksponentialfunktion som i (6). Men summen af to eksponentialfunktioner fitter data perfekt, og den søgte teori antages derfor at have denne relativt simple korrelationsfunktion. Kurverne gennem datapunkterne er samme korrelationsfunktion, plus/minus én standardafvigelse, beregnet med den endelige teori givet i (9), efter at denne var fittet til de her viste data og, samtidigt hermed, til data vist i Panel B og F. **F:** Histogrammer af henholdsvis farten og (farten)² aflæst af trajektorier som i Fig. 2B. De viste kurver er de samme størrelser beregnet med teorien i (9), efter at denne var fittet til data.

Fig. 3B viser root-mean-square-deviation (RMSD) af denne støjs komponenter som funktion af farten. De to komponenter ses at have uskelnelige amplituder, men disse amplituder er tydeligvis *ikke* uafhængige af farten! Her ser vi de eksperimentelle data forkaste OU-processen som model! Det gør støjens fordeling, vist i Fig. 3C også. Den er ikke Gaussisk som i OU-processen. Men iøvrigt er støjen ukorreleret som i (5), ser vi i Fig. 3D.

Hastigheds-auto-korrelationsfunktionen, som i OU-processen er en simpel eksponential-funktion, (6), ses i Fig. 3E. Den er perfekt fittet af en *sum* af to eksponential-funktioner. Her forkaster de eksperimentelle data nok engang OU-processen som model.

Endelig er sandsynlighedsfordelingen for hastigheden vist på to forskellige måder i Fig. 3F. I OU-processen er denne fordeling Gaussisk i 2 dimensioner, og derfor en ret linie i Fig. 3F2. Det er den eksperimentelle fordeling langt fra, ser vi, og det er det fjerde aspekt af data som forkaster OU-processen som model.

De her viste data er så rige på information at man, med få og små antagelser, entydigt kan finde den teori der skal til for at beskrive data [8]. Det er dén teori der er vist som fuldt-optrukne kurver gennem datapunkterne i Fig. 3. Den er givet ved den stokastiske integro-differentialligning

$$\frac{d\vec{v}}{dt}(t) = -\beta \vec{v}(t) + \alpha^2 \int_{-\infty}^t dt' e^{-\gamma(t-t')} \vec{v}(t') + \sigma(v(t)) \vec{\eta}(t) , \quad (9)$$

hvor

$$\sigma(v) = \sigma_0 + \sigma_1 v . \quad (10)$$

Her repræsenterer integralet over fortiden en slags hukommelse: Accelerationen til et givet tidspunkt afhænger ikke kun af hastigheden til samme tidspunkt, men også af tidligere hastigheder, vægtet aftagende med afstanden bagud i tid.

Bemærk ligheden med den hydrodynamisk korrekte teori i [8]. Motilitetsmodeller og modeller for Brownske bevægelser bliver ved med at ligne hinanden selvom begge er gjort væsentligt mere komplicerede her! Men iøvrigt er konklusionen at med de rige data man nu kan måle sig til, kan og bør man ikke nøjes med den simplest mulige model, OU-processen. "One size fits all" passer ikke mere. Motilitetsmodeller skal skræddersys efter mål, de målte data.

Vi har skitseret de førte fænomenologiske skridt af den proces: Hvordan man plotter og læser data på en måde så man kan formulere matematiske egenskaber ved en endnu ukendt teori. Når det er gjort, skal der anvendes matematik for at konstruere en model med de krævede egenskaber. Kan det lade sig gøre, skal der mere matematik til at afklare om den fundne teori er unik eller har konkurrenter der opfylder de samme krav fra data. To eksempler på teorier og deres udledning findes i [8].

Litteratur

- [1] R. Brown (1828), *A brief Account of Microscopical Observations in the Months of June, July and August, 1827, on the Particles contained in the Pollen of Plants, and on the general Existence of active Molecules in Organic and Inorganic Bodies*. Phil. Mag. N.S., **4**, 161.
- [2] K. Przibram (1913), *Über die ungeordnete Bewegung niederer Tiere*. Pflügers Arch. Physiol., **153**, 401.
- [3] H. Flyvbjerg, K. Berg-Sørensen og L. Oddershede (2005), *Brownske bevægelser, fra Einstein til optiske pincetter*. Dette nummer af KVANT, side 6.
- [4] R. Fürth (1917), *Einige Untersuchungen über Brownsche Bewegung an einem Einzelteilchen*. Ann. Phys. **53**, 177.
- [5] R. Fürth (1920), *Die Brownsche Bewegung bei Berücksichtigung einer Persistenz der Bewegungsrichtung. Mit Anwendungen auf die Bewegung lebender Infusorien*. Z. Physik **2**, 244.
- [6] L. S. Ornstein (1918), *On the Brownian Motion*. Proc. Amst., **21**, 96.
- [7] G. E. Uhlenbeck og L. S. Ornstein (1930), *On the Theory of Brownian Motion*. Phys. Rev. **36**, 823.
- [8] D. Selmeczi, S. Mosler, P. H. Hagedorn, N. B. Larsen, and H. Flyvbjerg (2005), *Cell Motility as Persistent Random Motion: Theories from Experiments*. Biophys J., to appear.



Henrik Flyvbjerg er teoretisk fysiker, dr.scient., seniorforsker i Biosystemer og Dansk Polymer Center på RISØ. David Selmeczi er eksperimentalfysiker, PhD-studerende i Budapest, og taler flydende dansk efter at have været gæstestuderende på RISØ.



Peter Hagedorn er teoretisk fysiker, PhD-studerende i Biosystemer på RISØ. Niels B. Larsen er kemiker, PhD, seniorforsker i Biosystemer og Dansk Polymer Center på RISØ og adjungeret professor ved SDU.