

REGULACIJA NABOJA IN ROBNI POGOJI V ELEKTROSTATIKI

MAKS KONCILJA

Fakulteta za matematiko in fiziko
Univerza v Ljubljani

Nekatere makromolekule so sposobne titriraja, saj lahko oddajo in prejmejo kislinske in bazične skupine. Regulacija naboja, ki je odvisna od vrednosti pH in lokalnega potenciala, vpliva na nekatere naravne procese kot na primer potovanje DNA skozi nanopore. Ravno tako se regulacijo naboja izkorišča v industriji, med drugim za oblikovanje materialov iz polielektrolitov. V članku je regulacija naboja vpeljana s pomočjo "kemijske" fenomenološke interpretacije in s "fizikalnim" statistično mehanskim pristopom. Sledi opis makromolekul z reguliranim nabojem v raztopini ionov, na primeru dveh makromolekul z regulariziranim nabojem. Nadaljujemo z večdelnim problemom makromolekul v raztopini, ki ga lahko glede na fizikalne razmere opišemo bodisi z uporabo celičnega modela, za statične raztopine, bodisi s kolektivnim opisom gibljivih makromolekul.

CHARGE REGULATION AND ELECTROSTATIC BOUNDARY CONDITIONS

Some macromolecules can donate and accept acidic and basic groups. The charge regulation depends of pH value and local potential, it affects some natural processes, such as the passage of DNA through nanopores. Charge regulation is exploited in industry, including the production of polyelectrolyte materials. In this paper, charge regulation is introduced with "chemical" phenomenological interpretation and a "physical" statistical mechanical approach. Introduction of the charge regulation is followed by the description of charge regulated macromolecules in an ion solution, starting with the example of two charge regulated macromolecules. The final part focuses on the many-body problem of macromolecules, which can be described differently based on the physical circumstances. When dealing with static macromolecules the cell model is used, whereas under alternative conditions a collective approach of moving macromolecules is utilized.

1. Uvod

V primeru nekaterih makromolekul, kot so naprimer DNA, proteini in polisaharidi, lahko s spreminjanjem pH in lokalnega potenciala pride do adsorpcije ionov, protonacije in deprotonacije na vezavnih mestih, torej do regulacije naboja. Predstavljajmo si, da se v vodni raztopini makromolekuli približa nabit delec, površina makromolekule, ki teži k minimalni prosti energiji, ustrezno odra ali prejme ione na vezavnih mestih. Na makromolekuli se spremeni porazdelitev naboja in se tako prilagodi na spremembam v kemijski sestavi svoje okolice. Primeri spojin, ki se lahko vežejo in ločijo od vezavnih mest makromolekul so preprosti ioni, kot na primer Cl^- , Na^+ , K^+ .

Regulacijo naboja opisujemo s kapacitivnostjo, ki je definirana kot varianca pričakovane vrednosti naboja makromolekule. Kapacitivnost lahko obravnavamo fenomenološko z opisovanjem ravnovesnega stanja vezavnega mesta makromolekule ali pa s statistično mehaniko v mikroskopski sliki [1]. Z razumevanjem preprostega primera interakcije med dvema makromolekulama spoznamo pomembnost regulacije naboja in njen doprinos k prosti energiji v različnih režimih. Problem več teles opisujemo s Poisson-Boltzmannovo enačbo [2] za fiksne naboje na površinah. V primeru statičnih makromolekul, v odsotnosti zunanega polja, regulacijo naboja obravnavamo s celičnim modelom z Wigner-Seitzovo celico [3]. Celični model je primeren za opis raztopin z visoko koncentracijo makromolekul, kjer je njihova translacijska entropija zanemarljivo majhna. Za konec pa vpeljemo kolektivni opis gibljivih makromolekul [4], kjer regulacijo naboja obravnavamo v približku povprečnega polja za dovolj redke raztopine.

Regulacija naboja ima v naravi daljnosežne posledice v njenem bistvenem ustroju, saj določa zakone potovanja DNA skozi nanopore [5], opisuje adsorpcijo proteinov na površine, določa oblike proteinov [6], vezave bakterij in med drugim tudi oblikovanje kapsid. V industriji in laboratorijih pa s pomočjo poznavanja regulacije naboja oblikujejo materiale iz polielektrolitov, kot so na primer polielektrolitske ščetke, ki se uporabljajo v kozmetiki. Regulacija naboja ima pomembno vlogo

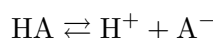
tudi v elektrokemijskih sistemih, eden od takšnih materialov so silicijeve površine v vodni raztopini elektrolitov, ki se uporabljajo za detekcijo biomolekul [7].

2. Delovanje in regulacija naboja

V tem poglavju predstavimo *kemijski* in *fizikalni* pristop k obrazložitvi regulacije naboja, kot sta to naredila avtorja članka [1]. Oba pristopa predstavljata pomembni vpogled v mehanizem delovanja. V nadaljevanju predstavljen *kemijski* pristop fenomenološko opiše regulacijo naboja preko ravnovesne enačbe enega vezavnega mesta, ki je dovzeten za protonacijo/deprotonacijo glede na ionsko strukturo okolice. *Kemijska* interpretacija opiše pomen, ki ga ima pH na ta mehanizem. Sledil mu bo *fizikalni* opis regulacije naboja, ki predstavi statistično mehansko mikroskopsko sliko in pomen lokalnega potenciala. V obeh primerih bomo izpeljali kapacitivnost, ki karakterizira regulacijo naboja.

2.1 Kemijska interpretacija

Prisotnost ionov v raztopini vpliva na kompleksno porazdelitev naboja na površini makromolekul, kjer na vezavnih mestih prihaja do protonacije in deprotonacije. Tako lokalni potencial vpliva na porazdelitev naboja na makromolekuli, slednji pa z regulacijo naboja, ustrezno vezavo in oddajanjem protonov neposredno vpliva na elektronski potencial v svoji okolici. Obravnavajmo eno vezavno mesto molekule, ki je lahko bazično ali kislinsko. Na vezavnem mestu lahko pride do deprotonacije in protonacije, če so v raztopini zadoščeni potrebni pogoji. V naravi se izolirani naboji ne pojavljajo pogosto in so kompenzirani z nasprotnim nabojem, saj vsak naboj nastane s separacijo naboja. Za eno vezavno mesto makromolekule zapišemo ravnovesno stanje



kjer je HA kislina, H^+ proton in A^- konjugirana baza. Enačbi ravnovesja določimo konstanto ravnovesja kot

$$K_a = \frac{\rho_{\text{H}^+} \rho_{\text{A}^-} \gamma_{\text{H}^+} \gamma_{\text{A}^-}}{\rho_{\text{HA}} \gamma_{\text{HA}}} \quad (1)$$

kjer je γ koeficient aktivnosti (*tj.* predfaktor k koncentraciji idealne snovi, ki deluje kot popravek in pri raztopinah odraža odmik od idealnega termodinamičnega obnašanja) in ρ povprečna koncentracija. Razmerje $\rho_{\text{HA}}/\rho_{\text{A}^-}$ določa pričakovano vrednost naboja vezavnega mesta, na katerem prihaja od protonacije in deprotonacije zaradi termične energije. Zaradi velikega razpona vrednosti konstante ravnovesja vzemimo negativno vrednost desetiškega logaritma $\text{p}K_a = -\log K_a$, definirajmo $\text{pH} = -\log(\rho_{\text{H}^+} \gamma_{\text{H}^+})$ in prepišimo enačbo (1) v obliko

$$-\log \frac{\rho_{\text{HA}}}{\rho_{\text{A}^-}} = \text{pH} - \text{p}K_a + \log \frac{\gamma_{\text{HA}}}{\gamma_{\text{A}^-}}. \quad (2)$$

Vezavno mesto makromolekule, ki se lahko le protonira ali deprotonira, je v izoelektrični točki pri $\text{pH} = \text{p}K_a$. Za obravnavo regulacije naboja predpostavimo, da se nahajamo v izoelektrični točki vezavnega mesta, da bo ta v statističnem povprečju električno nevtralen. Iz enačbe (2) razberemo, da sta koeficienta aktivnosti γ edina parametra, ki vplivata na vrednost povprečnega naboja vezavnega mesta. Koeficient aktivnosti je odvisen od bližine vezavnega mesta do drugih molekul. Iz enačbe (2) razberemo, da se v tem primeru ohranja aktivnost $a_i = \rho_i \gamma_i$ skozi celotno raztopino. Koeficient aktivnosti in povprečna koncentracija sta obratno sorazmerna. Ker je koeficient aktivnosti odvisen od razdalje do sosednjih električno nabitih molekul v raztopini je posledično tudi povprečna koncentracija odvisna od le-te.

Eno vezavno mesto obravnavajmo kot mikroskopski sistem z dvema stanjema. Osnovno stanje z

energijo $E_0 = 0$ naj bo deprotonirano, z z_H označimo valenčnost titranta, ki v primeru protona znaša +1. Koeficiente aktivnosti postavimo na 1, kar lahko naredimo, kadar imamo opravka s kondenzati čistih stanj (*tj.* snovi v trdnem in tekočem agregatnem stanju). Razlika proste energije med protoniranim in deprotoniranim stanjem znaša

$$\Delta F = -\frac{1}{\beta} \ln \frac{\rho_{HA}}{\rho_{A^-}} = \frac{1}{\beta} (\text{pH} - \text{pK}_a) \ln 10,$$

kjer je $\beta = (k_b T)^{-1}$ inverz termične energije. Sledijo particijska vsota, pričakovana vrednost naboja in kvadrata naboja - povprečji ki ju potrebujemo za izračun variance:

$$\mathcal{Z} = \sum_i e^{-\beta E_i} = 1 + \exp[-(\text{pH} - \text{pK}_a) \ln 10], \quad (3)$$

$$\langle z \rangle = \frac{1}{\mathcal{Z}} (z_0 + (z_0 + z_H) e^{-(\text{pH} - \text{pK}_a) \ln 10}), \quad (4)$$

$$\langle z^2 \rangle = \frac{1}{\mathcal{Z}} (z_0^2 + (z_0 + z_H)^2 e^{-(\text{pH} - \text{pK}_a) \ln 10}).$$

Varianca opisuje fluktuacijo naboja, kar je definicija kapacitivnosti

$$\langle z^2 \rangle - \langle z \rangle^2 = \frac{1}{\mathcal{Z}^2} (z_H^2 \exp[-(\text{pH} - \text{pK}_a) \ln 10]) \equiv c. \quad (5)$$

Zapišimo kako se spremeni pričakovana vrednost naboja pri majhni spremembi pH ; združimo enačbi (5) in (6) za končno obliko enačbe kapacitivnosti:

$$\frac{\partial \langle z \rangle}{\partial pH} = -\frac{1}{\mathcal{Z}^2} \cdot z_H \cdot \ln 10 \cdot \exp[-(\text{pH} - \text{pK}_a) \ln 10]. \quad (6)$$

$$c \equiv -\frac{z_H}{\ln 10} \cdot \frac{\partial \langle z \rangle}{\partial pH}. \quad (7)$$

Iz enačbe (7) razberemo, da kapacitivnost do predfaktorja enaka odzivu pričakovane vrednosti naboja pri majhni perturbaciji vrednosti pH .

2.2 Fizikalna interpretacija

Ponovno začnimo z obravnavo enega vezavnega mesta, ki je lahko protoniran ali deprotoniran. Vezavno mesto se nahaja v električnem potencialu Ψ preostalih električno nabitih delcev obravnavanega sistema. Ansambelsko povprečje pričakovane vrednosti naboja je določeno kot

$$\langle z \rangle = \frac{\sum z_i \exp(-\beta e_0 z_i \Psi)}{\sum \exp(-\beta e_0 z_i \Psi)}, \quad (8)$$

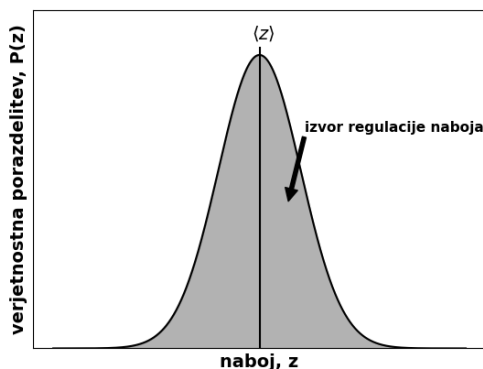
v enačbi vsota teče po vseh možnih stanjih naboja, z e_0 označujemo osnovni naboj. Pričakovana vrednost naboja je enaka *kemijsko* določeni vrednosti zapisani v enačbi (4). Vsaka sprememba električnega potenciala Ψ bo botrovala k spremembi pričakovane vrednosti naboja. Kot že vemo, lahko to spremembo dosežemo s spreminjanjem kemijske sestave okolice vezavnega mesta. Z majhno perturbacijo izraza (8) pripeljemo izpeljavo do kapacitivnosti, ki je enakovredna tisti, ki smo jo dosegli s *kemijskim* pristopom v enačbi (7). Za majhno perturbacijo električnega potenciala, ki vpliva od zunaj, smo dobili linearni odziv.

$$c \equiv -\frac{1}{\beta e_0} \frac{\partial \langle z \rangle}{\partial \Psi} = \langle z^2 \rangle - \langle z \rangle^2 \quad (9)$$

V tem primeru je to kapacitivnost enega vezavnega mesta c , ki jo lahko posplošimo do kapacitivnosti celotne makromolekule C . Celotni naboj makromolekule je vsota nabojev posameznih vezavnih mest $Z = \sum z_i$, sledi:

$$-\frac{\partial \langle Z \rangle}{\beta e_0 \partial \Psi} = C. \quad (10)$$

Kapacitivnost makromolekule smo definirali kot varianco povprečne vrednosti naboja na makromolekuli, le-ta meri količino inducirane naboja v prisotnosti zunanjega električnega polja. Gaussova porazdelitev vrednosti naboja okoli pričakovane vrednosti (glej sliko 1) in dejstvo, da jo lahko perturbiramo, je izvor regulacije naboja.



Slika 1. Graf porazdelitve vrednosti naboja, s pričakovano vrednostjo $\langle z \rangle$ in varianco c . Porazdelitev vrednosti naboja je izvor mehanizma regulacije naboja. Prirejeno po viru [1].

3. Opis makromolekul z reguliranim nabojem v raztopini ionov

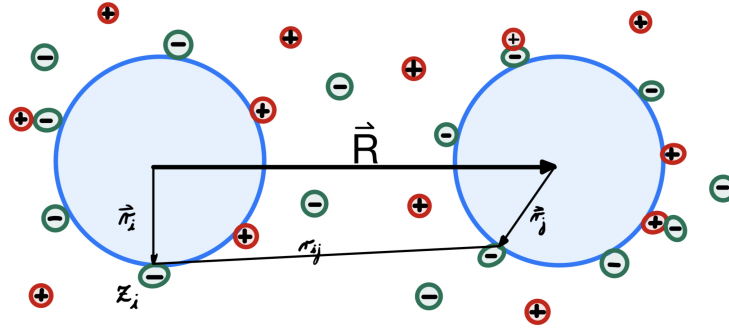
Za začetek obravnavajmo vpliv regulacije naboja na interakcijo med dvema makromolekulama [1]. Raziščimo pogoje pri katerih pride prispevek regulacije naboja do izraza. Sledil bo formalizem povprečnega polja, ki s pomočjo Poisson-Boltzmannove teorije modelira obnašanje večdelčnega sistema makromolekul z regulariziranim nabojem v ionskih raztopinah. Predstavili bomo celični model [8], ki je dober približek za homogene statične sisteme v odsotnosti zunanjega električnega polja in kolektivni opis gibljivih makromolekul [3], ki obravnava makromolekulske raztopine majhnih gostot v prisotnosti zunanjega električnega potenciala.

3.1 Interakcija dveh makromolekul z regulariziranim nabojem

Obravnavajmo doprinos regulacije naboja k interakciji med dvema makromolekulama z regulariziranim nabojem. Makromolekuli sta v vodni raztopini elektrolitov. Obravnavajmo njuno stabilnost in medsebojne interakcije. Pokažimo, kako lahko s koncentracijo soli spremenimo kemijsko sestavo raztopine in s tem vplivamo na elektrostatske sile med makromolekulama, ki niso odvisne le od povprečne porazdelitve naboja na makromolekuli, ampak tudi od njene kapacitivnosti. Pri majhni koncentraciji soli v vodni raztopini med makromolekulama prevladuje Coulombska interakcija. Če je skupni naboj posamezne makromolekule blizu nič in sta makromolekuli blizu skupaj postanejo pomembne tudi druge interakcije, kot na primer interakcije, ki so posledice inducirane naboja makromolekul in kapacitivnosti celotne makromolekule.

Sledimo izpeljavi iz članka [1]. Prosto energijo interakcije dveh makromolekul; makromolekule 1. s porazdelitvijo naboja (\mathbf{r}_i, z_i) in makromolekule 2. s porazdelitvijo naboja (\mathbf{r}_j, z_j) - porazdelitvi sta neničelni $\langle \sum z_i \rangle = \langle Z \rangle \neq 0$ - na medsebojni razdalji središč makromolekul \mathbf{R} , zapišemo kot

$$F(R) = -\frac{1}{\beta} \ln \langle \exp(-\beta U(R)) \rangle_0.$$



Slika 2. Skica dveh makromolekul v vodni raztopini ionov, kjer ima prva porazdelitev naboja (\mathbf{r}_i, z_i) in druga porazdelitev naboja (\mathbf{r}_j, z_j). Središči makromolekul sta na medsebojni razdalji \mathbf{R} , razdaljo med nabojevema i in j označimo kot r_{ij} .

Z $U(R)$ označimo interakcijo med dvema porazdelitvama naboja in $\langle \cdot \rangle_0$ povprečje po neperturbiranem sistemu. Naredimo Taylorjev razvoj do drugega reda

$$F(R) \approx \frac{1}{\beta} \left[\langle \beta U(R) \rangle_0 - \frac{1}{2} \langle (\beta U(R))^2 \rangle_0 + \frac{1}{2} [\langle \beta U(R) \rangle_0 + \langle (\beta U(R))^2 \rangle_0]^2 \right].$$

Za enostavnost predpostavimo nizko koncentracijo soli v vodni raztopini in nesenčene elektrostatske interakcije, medmolekulsko interakcijo opišemo s Coulombovim zakonom za dve porazdelitvi naboja

$$U = \frac{1}{\beta} \sum_i \sum_j \frac{l_B z_i z_j}{r_{ij}}$$

kjer je $l_B = (\beta e_0^2)/(4\pi\epsilon_0\epsilon)$ Bjerrumova dolžina, ki je v primeru vodne raztopine pri sobni temperaturi velikostnega reda ~ 7 Å, $r_{ij} = |\mathbf{R} + \mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i|$ je razdalja med nabojevema i in j . Medmolekulsko interakcijo lahko razvijemo v Taylorjevo vrsto, pri predpostavki, da je razdalja med makromolekulama veliko večja od velikosti posamezne makromolekule. Tako se izraz proste energije razstavi v različne medmolekulske interakcijske člene. V enačbi (11) prvi člen predstavlja interakcijo med statičnema nabojevema makromolekul, drugi člen interakcijo med statičnem in induciranim naboju ter tretji člen interakcijo med induciranim in induciranim naboju obeh makromolekul.

$$F(R) \approx \frac{1}{\beta} \left[\frac{l_B \langle Z_1 \rangle \langle Z_2 \rangle}{R} - \frac{l_B^2}{2R^2} (\langle Z_1 \rangle^2 C_2 + \langle Z_2 \rangle^2 C_1) - \frac{l_B^2}{2R^2} (C_1 C_2) \right] \quad (11)$$

Prvi neničelni člen razvoja, ki se nanaša na interakcijo med ionom in dipolom, je četrtega reda in jo v našem razvoju proste energije zanemarimo, saj jo obravnavamo le do drugega reda v R . V primeru raztopine, kjer sta makromolekuli enaki $\langle Z \rangle = \langle Z_1 \rangle = \langle Z_2 \rangle$ in upoštevanju dejstva, da ima vsaka makromolekula z reguliranim nabojem kapacitivnost, definirano kot varianco pričakovane vrednosti celotnega naboja molekule, preoblikujemo enačbo približka proste energije v:

$$F(R) \approx \frac{1}{\beta} \left[\frac{l_B \langle Z \rangle^2}{R} - \frac{l_B^2}{2R^2} (2C \langle Z \rangle^2 + C^2) \right].$$

Prvi člen razlike predstavlja Coulombski odboj in drugi člen opisuje privlak, kot posledico regulacije naboja. V primeru, ko je $R < l_B C$ postane privlačni člen vodilni. V izoelektrični točki $\langle Z \rangle = 0$ preostane le člen, ki opisuje interakcijo med induciranimi nabojevema obeh makromolekul

$$F(R) \approx -\frac{1}{\beta} \frac{(l_B C)^2}{2R^2}.$$

Pri vseh naštetih pogojih in predpostavkah pridemo do situacije, kjer z majhno spremembo zunanjega električnega potenciala preko regulacije naboja povzročimo fluktuacijo pričakovane vrednosti naboja makromolekul, kar ima velik doprinos k silam med makromolekulami. Po enačbi (10) ocenimo količino inducirane naboja na makromolekuli pri spremembi zunanjega potenciala:

$$\Delta Z \approx -\beta e_0 \Delta \Psi.$$

Molekula ima ponavadi različna vezavna mesta za titracijo različnih skupin. Posamezno titracijsko skupino označimo s k , število pripadajočih vezavnih mest molekule naj bo n_k . Pri predpostavki odsotnosti interakcij med posameznimi mesti na makromolekuli celotno kapaciteto makromolekule določimo kot:

$$C^{\text{ideal}} = \frac{1}{\ln 10} \sum_k n_k \frac{10^{\text{pH}-\text{p}K_k}}{(1 + 10^{\text{pH}-\text{p}K_k})^2} = -\frac{1}{\ln 10} \frac{\langle Z \rangle}{\partial \text{pH}}.$$

Doprinos regulacije naboja k prosti energiji lahko preseže doprinos Coulombskega odboja v dveh situacijah. V primeru dovolj velike kapacitivnosti ali pa v primeru, ko je ena od makromolekul v izoelektrični točki $\langle Z \rangle = 0$. V splošnem je doprinos regulacije naboja dveh makromolekul v stiku k prosti energiji velikostnega reda termične energije $k_B T$. Za dve identični makromolekuli je približek interakcijske proste energije (zanemarimo člen s C^2) enak

$$F(R) \approx \frac{1}{\beta} \left[\frac{l_B \langle Z \rangle^2}{R} - \frac{l_B^2 C \langle Z \rangle^2}{R^2} \right] = \frac{1}{\beta} \left(\frac{l_B \langle Z \rangle^2}{R} \left[1 - \frac{l_B C}{R} \right] \right).$$

Med makromolekulama prevladuje Coulombska interakcija v primeru velikega celotnega naboja posamezne makromolekule $|Z| \gg 1$ in majhne koncentracije soli v raztopini. Člen ion-ionskega odboja prevladuje tudi v primeru makromolekul povprečne velikosti s kapacitivnostjo velikostnega reda enote, kjer je razdalja med jedri makromolekul $30 - 40 \text{ \AA}$. V linearnem približku je prosta energija negativna kadar je $R < l_B C$. V primeru velikih kapacitivnosti in tesni bližini makromolekul lahko prevladuje člen regulacije naboja. Kapacitivnost raste linearno s številom vezavnih mest na makromolekulah $N = \sum_k n_k$, medtem ko velikost makromolekule raste sorazmerno z $N^{1/3}$.

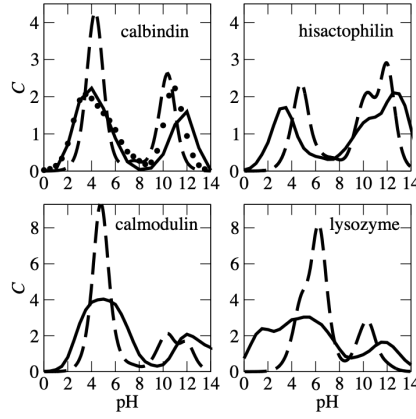
Kapacitivnost molekule C je eksperimentalno določena kot strmina titracijske krivulje. Iz enačbe (2) sledi, da je ionizacijska stopnja α titrirajoče kisline pri ravnotežni konstanti K in pri neki pH raztopine enaka

$$\log K = -\text{pH} + \log \frac{\alpha}{1 - \alpha}$$

Odvajamo ionizacijsko stopnjo po pH, dobimo eksperimentalno merljivo vrenost kapacitivnosti c .

$$\frac{\partial \alpha}{\partial \text{pH}} = \alpha(1 - \alpha) = c \ln 10$$

Za simulacijo elektrostatskih interakcij makromolekulske vodne raztopine ionov se raziskovalci poslužujejo Monte-Carlo simulacij. Na grafu 3 prikazujemo vrednosti kapacitivnosti C štirih različnih biomolekul v odvisnosti od pH določenih: eksperimentalno (pikčasta krivulja, podatki le za calbindin), v idealni aproksimaciji, kjer zanemarimo interakcije (črtkana krivulja) in numerično z MC simulacijami (polna krivulja). Razlika med simuliranimi in idealnimi krivuljami se kaže v razširitvi vrhov krivulj pri majhnih in velikih vrednostih pH, kot posledica vpliva anionov in kationov. V bližini prvega vrha je pri majhnih vrednostih pH enak $\text{p}K_a$ kislinskih ionov, ki se lahko vežejo na vezavna mesta makromolekul in v bližini drugega vrha je pri velikih vrednostih pH enak $\text{p}K_b$ bazičnih ionov, ki se lahko vežejo na vezavna mesta makromolekul. Biomolekule z velikim nabojem $\sim 20e_0$ odstopajo od idealnih titracijskih krivulj. Večji kot bo skupni naboj makromolekule nižja in širša bo simulirana vrednost kapacitivnosti v primerjavi z idealno krivuljo.



Slika 3. Kapacitivnost C štirih različnih makromolekul v odvisnosti od pH v vodni raztopini z množinsko koncentracijo 30 mM 1:1 soli. S polno črto so označene simulirane vrednosti, s črtkano črto so prikazane idealne vrednosti in s pikčasto linijo eksperimentalne vrednosti. Prirejeno po viru [1].

3.2 Prosta energija in regulacija naboja

Regulacija naboja zaplete fizikalni opis makromolekul v raztopini, saj vpliva na robne pogoje. Lokalni potencial vpliva na porazdelitev naboja na makromolekuli, slednja pa sočasno vpliva na elektronski potencial. Dani problem lahko obravnavamo s formalizmom Poisson-Boltzmannove teorije povprečnega polja [2] za opis večdelčne makromolekulske raztopine ionov s prosto energijo definirano kot vsoto površinskega in prostorninskega člena

$$F = \int_V d^3r f_V(\Psi, \nabla\Psi, n_i) + \int_S d^2r f_s(\Psi_s, n_i^s). \quad (12)$$

V enačbi $\Psi(\mathbf{r})$ predstavlja lokalni elektrostatski potencial, $n_i(\mathbf{r})$ lokalno koncentracijo ionov i -te vrste, vrednosti ekvivalentnih količin na površini makromolekul označimo z n_i^s in Ψ_s . Elektrostatska energija in prosta energija v odsotnosti elektrostatskega potenciala je del f_V , v primeru razredčene raztopine sta člena ekvivalentna entropiji ionov, ki jih obravnavamo v približku idealnega plina. Regulacija naboja, interakcije ionov z makromolekulami so del površinske gostote proste energije f_s . Obravnavajmo preprost primer raztopine monovalentne soli. Lokalne koncentracije n_i so tako n_- za anione in n_+ za katione. Sistem dodatno poenostavimo s predpostavko, da na vezavnih mestih makromolekule prihaja le do protonacije in deprotonacije kationov. Gostota površinske proste energije f_s je funkcija koncentracije absorbiranih kationov n_+^s in površinskega potenciala Ψ_s . Prostorninska gostota proste energije f_V ima obliko standardne Poisson-Boltzmannove proste energije.

$$f_V(\Psi, \nabla\Psi, n_i) = f_{PB}(\Psi, \nabla\Psi, n_{\pm}) \quad (13)$$

Zapišimo Euler-Lagrangeve enačbe za prostorninski del gostote proste energije

$$\nabla \cdot \frac{\partial f_V}{\partial \nabla\Psi} - \frac{\partial f_V}{\partial \Psi} = 0 \quad \text{in} \quad \frac{\partial f_V}{\partial n_{\pm}} = 0, \quad (14)$$

površinski del bo imel obliko

$$\hat{\mathbf{n}} \cdot \frac{\partial f_V}{\partial \nabla\Psi} \Big|_s + \frac{\partial f_s}{\partial \Psi_s} = 0 \quad \text{in} \quad \frac{\partial f_s}{\partial n_+^s} = 0 \quad (15)$$

kjer je $\hat{\mathbf{n}}$ normalni enotski vektor na površino makromolekule. Enačba (14) se reducira na Poisson-Boltzmannovo enačbo in enačba (15) določi robne pogoje regulacije naboja. Predstavljen formalizem lahko uporabimo v različnih modelih za opis makromolekulskih raztopin ionov pri različnih pogojih.

3.3 Celični model

Celični model [3] je prikladen pri obravnavi statičnih makromolekul, kjer zahteven večdelni problem nadomesti z efektivnim problemom enega telesa. Uporabimo ga lahko le za raztopine z dovolj veliko gostoto makroionov v odsotnosti zunanega električnega potenciala. Vsaka makromolekula je v središču Wigner-Seitzove celice, obdajajo jo molekule topila in ioni soli. Kot je prikazano na desni sliki 4, je a polmer makromolekule in R polmer celice (potrebno je ločiti R iz poglavja 3.1., kjer je predstavljal razdaljo med dvema makromolekulama), ki ga določa koncentracija makromolekul. Za vsako celico velja, da je električno nevtralna, saj je vsota nabojev vseh nabitih delcev ničelna. Raztopino makroionov opisujeta enačbi (14) in (15). Dodatno potrebujeta pogoj za rob celice, ki izvira iz geometrije problema

$$\hat{\mathbf{n}} \cdot \nabla \Psi|_R = 0.$$

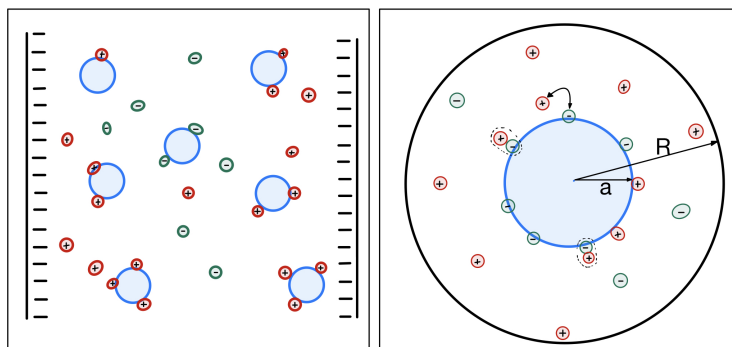
Na robu celice R je potencial $\Psi(r)$ asimptotsko aproksimiran z rešitvijo Poisson Boltzmannove enačbe v sferični geometriji

$$\frac{d^2 \Psi}{dr^2} + \frac{2}{r} \frac{d\Psi}{dr} = \frac{\beta e_0^2}{\epsilon \epsilon_0} (n_-^R e^\Psi - n_+^R e^{-\Psi}),$$

z n_-^R in n_+^R smo označili koncentracijo anionov in kationov na robu Wigner-Seitzove celice. Povezuje ju enačba

$$n_+^R \int_a^R \exp(-\Psi(r)) r^2 dr + n_-^R \int_a^R \exp(\Psi(r)) r^2 dr = -Z.$$

Naboj kationov in anionov v okoliški raztopini makromolekule se mora znotraj celice sešteti v nasprotni naboj makromolekule, da zadostimo pogoju ničelne vsote električnega naboja v celici.



Slika 4. Leva slika je skica makromolekul z regulariziranim nabojem v raztopini monovalentne soli med dvema negativno nabitima ploščama, sistem obravnavamo s kolektivnim opisom makromolekul. Desna slika prikazuje Wigner-Seitzovo osnovno celico polmera R z makromolekulo polmera a v njenem središču, obdajajo jo raztopina monovalentne soli. Prirejeno po viru [4].

3.4 Kolektivni opis gibljivih makromolekul

Razredčeno raztopino makromolekul obravnavamo kot plin točkastih ionov, zato v izrazu proste energije (12) odpade člen površinske gostote proste energije, ki ga zamenjamo z dodatnim členom v prostorninskem delu. Točkaste makromolekule z regulariziranim nabojem naj imajo gostoto p . Prostorninska gostota proste energije (13) se spremeni v

$$f_V(\Psi, \nabla \Psi, n_{\pm}, p, Z) = f_{PB}(\Psi, \nabla \Psi, n_{\pm}, p) + p g(\Psi, Z), \quad (16)$$

kjer je Z celotni električni naboj makromolekule in $g(\Psi, Z)$ je točkovni ekvivalent $f_s(\Psi_s, n_+^s)$, tako da je zadoščeno enakosti:

$$g(\mathbf{r}) = \oint_s d^2r' f_s(\Psi_s(\mathbf{r} + \mathbf{r}'), n_+^s(\mathbf{r} + \mathbf{r}')) = g(\Psi(\mathbf{r}), Z(\mathbf{r})).$$

Enačbo (16) sestavlja Poisson-Boltzmannova prosta energija za tri vste ionov: p , n_- , n_+ in prostorninski člen $p g(\Psi, Z)$ regulacije naboja. Euler-Lagrangeve enačbe (14) prostorninskega dela ostajajo nespremenjene, medtem ko robne pogoje enačb (15) nadomestijo novi ohranitveni pogoji:

$$\frac{\partial f_V}{\partial p} = 0 \quad \text{in} \quad \frac{\partial f_V}{\partial Z} = 0, \quad (17)$$

makromolekule se obravnava podobno kot ione v raztopini. Samo konsistentno določen naboj Z ni vezan. Kolektivni opis se od celičnega loči tudi po tem, da je v $f_{\text{PB}}(\Psi, \nabla\Psi, n_{\pm}, p)$ vključen vpliv translacijske entropije makromolekul. Koncentracija makromolekul p , njihov naboj Z in elektrostatiski potencial Ψ , ki je določen s povprečjem lokalne porazdelitve makromolekul in ionov v raztopini, so vsi odvisni od regulacije naboja.

Za mobilne makroione, ki jih obravnavamo s kolektivnim opisom, imata naboj makromolekul Z in njihova koncentracija p prostorsko odvisnost v prisotnosti zunanjih električnih polj. Vpeljimo lokalno gostoto naboja $\rho(\Psi) = \sum_i z_i n_i(\Psi)$, kjer je $n_i(\Psi) = n_i^b \exp(-\beta z_i \Psi)$ za monovalentne raztopine $n_{\pm}^b = n_b$ in Debyeova senčitvena dolžina $\lambda_D = (8\pi l_B n_b)^{-1/2}$. Analogno Debyeovi senčitveni dolžini (tj. dolžina elektrostatskega vpliva ionov na raztopino) uvedemo efektivno senčitveno dolžino ionov λ_{eff}

$$\lambda_{\text{eff}}^{-2} = -\frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} \frac{\partial \rho(\Psi)}{\partial \Psi} \Big|_{\Psi=0}.$$

V primeru makromolekul z reguliranim nabojem ima lokalna gostota naboja obliko,

$$\rho(\Psi) = e n_+(\Psi) - e n_-(\Psi) + Z(\Psi) p(\Psi)$$

efektivno senčitveno dolžino ionov (35) se ob upoštevanju reguliranega naboja prepíše v

$$\lambda_{\text{eff}}^{-2} = \frac{4\pi l_b}{e_0^2} \left[e_0^2 n_+^b + e^2 n_-^b + p_b (\bar{Z}^2 + (\Delta Z)^2) \right], \quad (18)$$

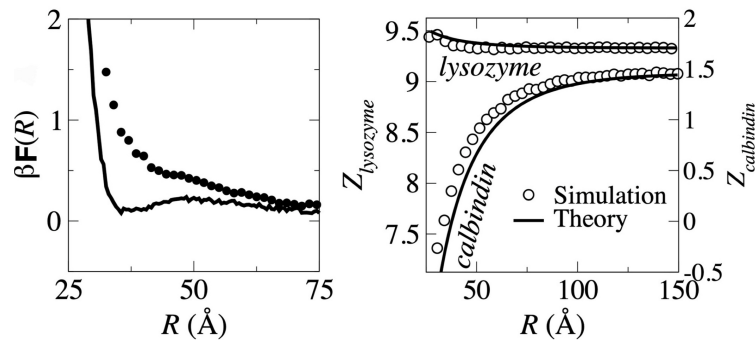
kjer je $\bar{Z} \equiv Z(\Psi = 0)$ povprečen naboj. Zadnji člen vsote efektivne zrcalne dolžine ionov nastopi kot posledica regulacije naboja, kapacitivnosti, ki je na začetku članka vpeljana, kot varianca pričakovane vrednosti naboja makromolekule.

$$(\Delta Z)^2 \equiv -\frac{1}{\beta} \frac{\partial Z(\Psi)}{\partial \Psi} \Big|_{\Psi=0}$$

Enačba (18) nam ponudi vpogled v celotno kapacitivnost sistema za primer mobilnih makromolekul. V članku [4] avtorji definirajo celotno kapacitivnost sistema in intrinzično kapacitivnost, ki je ekvivalent tisti, ki smo jo spoznali v 2. poglavju članka kot kapacitivnost posamezne makromolekule C . Celotna kapacitivnost sistema je povezana s reporzdelitvijo vseh nabitih delcev v raztopini; n_+ , n_- in p . Lokalne koncentracije anionov in kationov vplivajo le na celotno kapacitivnost sistema, medtem ko makromolekule z regulariziranim nabojem vplivajo tako na intrinzično kapacitivnost, kot na celotno kapacitivnost sistema.

4. Primeri pojavov povezanih z regulacijo naboja

Eden od primerov pojavov povezanih z regulacijo naboja je interakcija med proteini. V šestdesetih letih prejšnjega stoletja sta avtorja članka [9] predvidela, da je privlačna sila med pozitivno nabitimi proteini posledica regulacije naboja, protonacije in deprotonacije vezavnih mest proteina. Avtorja članka [10] sta numerično simulirala vpliv fluktuacije naboja pri izračunu proste energije interakcije proteinskega para kalibidin-lizocim. Na veliki medsebojni razdalji imata oba proteina pozitivni naboj, med približevanjem pa se povprečna vrednost naboja $\langle Z \rangle$ posameznega proteina spreminja. Pričakovana vrednost naboja kalbidina se pri $\text{pH} = 4$ spreminja hitreje kot naboj lizocima, kot posledica velikega naboja in majhne kapacitivnosti lizocima in majhnega naboja ter velike kapacitivnosti kalbidina. Če poznamo pričakovani vrednosti naboja in kapacitivnosti obeh proteinov lahko po enačbi (11) ocenimo prosto energijo. Na levem grafu 5 prikazujemo vrednost proste energije v odvisnosti od medsebojne razdalje centrov proteinov kalibidin in lizocim pri $\text{pH} = 4$, brez upoštevanja regulacije naboja (pikčasta krivulja) in z upoštevanjem regulacije naboja (polna krivulja). Na desnem grafu 5 je prikazana odvisnost pričakovane vrednosti naboja kalbidina in lizocima pri $\text{pH} = 4$ v odvisnosti od razdalje med centri proteinov kalibidin in lizocim.



Slika 5. Levi graf prikazuje prosto energijo interakcije proteinskega para kalibidin-lizocim pri $\text{pH} = 4$ v odvisnosti od razdalje med centroma proteinov brez upoštevanja regulacije naboja (pikčasta krivulja) in z upoštevanjem regulacije naboja (polna krivulja). Desni graf prikazuje teoretično in simulirano vrednost pričakovane vrednosti naboja kalbidina in lizocima pri $\text{pH} = 4$ v odvisnosti od med proteinske razdalje. Prirejeno po viru [1].

Obravnavajmo še en pojav, ki je posledica regulacije naboja. Avtorja knjige [11] sta podrobno opisala mehanizem vezave ligandov na proteine v povezavi z regulacijo naboja. Obravnavajmo vezavo štirih kalcijevih ionov in kratko peptidno verigo z nabojem $(+7e_0)$, ki se kot liganda vežeta na protein kalmodulin. Kalmodulin ima 43 kislinskih (negativno nabita vezavna mesta) in 16 bazičnih ostankov (pozitivno nabita vezavna mesta). Vsi bazični ostanki so pri $\text{pH} < 10$ pozitivno nabiti [1]. Pri majhnih vrednostih pH deprotonacija kalmodulina odraža kapacitivnost, medtem ko pri bazičnih vrednostih pH spremembi deprotonacije in kapacitivnosti nista tako izraziti. Razlog se skriva v tem, da so negativno nabiti ioni v raztopini pri nizkih vrednostih pH v prostoru bližje vezavnim mestom kalcija kot bazičnim ostankom proteina kalmodulina.

5. Zaključek

Vse makromolekule, ki so sposobne oddajanja in prejemanja naboja opisuje mehanizem regulacije naboja. Regulacijo naboja opišemo z intrinzičnim parametrom: kapacitivnostjo (*i.e.* varianca pričakovane vrednosti naboja), ki je odvisna od pH raztopine, $\text{p}K_a$ vezavnih mest na makromolekuli in lokalnega potenciala. Kapacitivnost lahko določimo eksperimentalno kot odvod titracijske krivulje, ali pa jo simuliramo z MC algoritmi. Kapacitivnost nastopa v gostoti proste energije interakcij med makromolekulami. V članku obravnavamo celični model, ki je primeren za goste raztopine

makromolekul v odsotnosti zunanega električnega polja. Z določenimi robnimi pogoji modela in ohranitvenimi zakoni smo zapisali Poisson-Boltzmannovo enačbo za potencial Ψ . Na koncu smo za primer razredčenih makromolekulskih raztopin elektrolitov uvedli kolektivni opis kot posplošitev Poisson-Boltzmannovega modela. Uvedli smo efektivno senčitveno dolžino ionov, ki opisuje lastnosti raztopine, lokalni potencial in nehomogenosti v gostoti kot posledico zunanega električnega potenciala. Efektivna senčitvena dolžina, podobno Debye-vi senčitveni dolžini, upošteva preporazdelitev gostote naboja ionov v raztopini in spremembe naboja makromolekul zaradi regulacije naboja.

6. Zahvala

Rad bi se zahvalil mentorju doc. dr. Mateju Kanduču in urednikom revije Matrika.

Literatura

- [1] Mikael Lund in Bo Jönsson. "Charge regulation in biomolecular solution". V: *Q. Rev. Biophys.* 46.3 (2013). DOI: 10.1017/s003358351300005x.
- [2] P. Zihlerl. *Physics of Soft Matter: lecture notes*. Dec. 2023, str. 131–151.
- [3] T. Gisler in drugi. "Understanding colloidal charge renormalization from surface chemistry: Experiment and theory". V: *The Journal of Chemical Physics* 101.11 (1994). DOI: 10.1063/1.467894.
- [4] Yael Avni, David Andelman in Rudolf Podgornik. "Charge regulation with fixed and mobile charged macromolecules". V: *Current Opinion in Electrochemistry* 13 (2019). DOI: 10.1016/j.coelec.2018.10.014.
- [5] Zhijun Jiang in Derek Stein. "Charge regulation in nanopore ionic field-effect transistors". V: *Physical Review E* 83.3 (2011). DOI: 10.1103/physreve.83.031203.
- [6] M. F. Perutz. "Electrostatic Effects in Proteins". V: *Science* 201 (1978). DOI: 10.1126/science.694508.
- [7] Cédric Gentil, Denis Côte in Ulrich Bockelmann. "Transistor based study of the electrolyte/SiO₂ interface". V: *physica status solidi (a)* 203.14 (2006). DOI: 10.1002/pssa.200622447.
- [8] S. Alexander in drugi. "Charge renormalization, osmotic pressure, and bulk modulus of colloidal crystals: Theory". V: *The Journal of Chemical Physics* 80.11 (1984). DOI: 10.1063/1.446600.
- [9] John G. Kirkwood in John B. Shumaker. "Forces between Protein Molecules in Solution Arising from Fluctuations in Proton Charge and Configuration". V: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 38.10 (1952). DOI: 10.1073/pnas.38.10.863.
- [10] Mikael Lund in Bo Jönsson. "On the Charge Regulation of Proteins". V: *Biochemistry* 44.15 (2005). DOI: 10.1021/bi047630o.
- [11] J. Wyman in S.J. Gill. *Binding and Linkage: Functional Chemistry of Biological Macromolecules*. University Science Books, 1990. DOI: 10.1016/0014-5793(91)81192-b.