

Mejoras en el cálculo de magnitudes rotacionales de macromoléculas

FOR

Vicente Rodes Belmonte, María del Carmen
López Martínez (*) y José García de la Torre

ABSTRACT

The hydrodynamic theory of macromolecular models composed by spherical elements fails to predict the components of the rotational friction tensor for a given axis when the centers of the elements lie on that axis. Generally, for models with few elements whose sizes are not much smaller than the average of the distances between them, the theory leads to erroneous results. We have found a way of correcting the results of the original theory by just adding $6V\eta_0$, V being the the macromolecule's hydrated volume and η_0 the viscosity of the solvent, to the diagonal componentes of the friction tensor. To check he performance of his correction, calculations have been made for two kinds of models for which exact results are available.

RESUMEN

La teoría hidrodinámica de modelos macromoleculares compuestos por elementos esféricos falla en la predicción de los componentes del tensor rotacional correspondientes a un eje cuando los centros de los elementos están sobre el eje. En general, para modelos formados por pocos elementos, de manera que sus tamaños no sean mucho menores que las

(*) Actualmente en el Departamento de Física.



distancias entre ellos, la teoría da resultados más o menos incorrectos. En este trabajo hemos encontrado una corrección para compensar este defecto de la teoría. La corrección consiste simplemente en añadir un término $6V\eta_0$ a los componentes diagonales obtenidos mediante la teoría original, siendo V el volumen hidratado de la macromolécula y η_0 la viscosidad del disolvente. Hemos comprobado el funcionamiento de la corrección para dos tipos de modelos cuyos resultados exactos son conocidos.

INTRODUCCION

En el cálculo de magnitudes hidrodinámicas de macromoléculas en disolución acuosa, la macromolécula estudiada se representa mediante un modelo formado por cierto número N de esferas. El modelo debe reproducir aceptablemente el tamaño y la forma que se conoce (o se supone) para la macromolécula. En el tratamiento teórico utilizado hasta ahora [véase la reciente revisión de García de la Torre y Bloomfield (1)], las fuerzas de fricción, F_i , en cada una de las esferas que componen el modelo macromolecular están relacionadas mediante el sistema de ecuaciones lineales

$$F_i + \zeta_i \sum_{j=1}^N T_{ij} \cdot F_j = \zeta_i(u_i v_i^0) \quad (1)$$

ζ_i es el coeficiente de fricción del elemento esférico i , que según la ley de Stokes viene dado por $6\pi\eta_0\sigma_i$, siendo σ_i el radio de la esfera y η_0 la viscosidad del disolvente. u_i y v_i^0 son, respectivamente, las velocidades de la esfera i y la que el disolvente tendría en el centro de dicho elemento en ausencia de la macromolécula. T_{ij} es el tensor de interacción hidrodinámica (ec. 4 en ref. 1). Para traslación o rotación simples de la macromolécula en un medio que en ausencia de ella estaría en reposo, $v_i^0 = 0$.

La ecuación 1 se puede poner en la siguiente forma:

$$\sum_{j=1}^N B_{ij}^{tt} \cdot F_j = u_i \quad (2)$$

donde

$$B_{ij}^{tt} = \zeta_i^{-1} \delta_{ij} I + (1 - \delta_{ij}) T_{ij} \quad (3)$$

En forma matricial, tenemos

$$B^{tt} \cdot F = U \quad (4)$$

\mathbf{B}^{tt} es una matriz $3N \times 3N$ formada por $N \times N$ cajas de dimensión 3×3 , que son las \mathbf{B}_{ij}^{tt} ; \mathbf{F} es un vector de dimensión $3N$, formado por las tres componentes de cada una de las \mathbf{F}_i . Análogamente se define \mathbf{U} . \mathbf{I} en la ecuación 3 es la matriz unidad 3×3 .

Las fuerzas se calculan resolviendo la ecuación 4; si $\mathbf{C}^{tt} = (\mathbf{B}^{tt})^{-1}$,

$$\mathbf{F}_i = \sum_j \mathbf{C}_{ij}^{tt} \cdot \mathbf{u}_j \quad (5)$$

Para la dinámica rotacional, que es la que aquí nos ocupa, $\mathbf{u}_i = \boldsymbol{\omega} \times \mathbf{r}_i$, siendo $\boldsymbol{\omega}$ la velocidad angular de la macromolécula y \mathbf{r}_i el vector que une su centro hidrodinámico (1, 2), D , con el centro del elemento i . Los momentos de las fuerzas vienen dados por

$$\mathbf{T}'_i = \mathbf{r}_i \times \mathbf{F}_i \quad (6)$$

A partir del momento total, \mathbf{T}' , se obtiene el denominado tensor de fricción rotacional, $\boldsymbol{\Xi}'_r$; mediante

$$\sum_i \mathbf{T}'_i = \mathbf{T}' = \boldsymbol{\Xi}'_r \cdot \boldsymbol{\omega} \quad (7)$$

$\boldsymbol{\Xi}_r$ caracteriza la dinámica rotacional determinista. Por otra parte, la dinámica rotacional Browniana, que es la que se observa experimentalmente, se caracteriza mediante un tensor similar, el tensor de difusión rotacional, \mathbf{D}_r , relacionado con el anterior a través de la ecuación generalizada de Einstein (2),

$$\mathbf{D}_r = k_B T \boldsymbol{\Xi}'_r^{-1} \quad (8)$$

k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta. A partir de \mathbf{D}_r se puede predecir la variación con el tiempo de propiedades electro-ópticas (birrefringencia, dicroísmo, fluorescencia), que son la fuente habitual de información rotacional.

Si la teoría se particulariza al caso más simple de una única esfera, al fijar D en su centro, resulta $\mathbf{r}_i = \mathbf{0}$ y, según las ecuaciones 6 y 7, $\boldsymbol{\Xi}'_r = \mathbf{0}$; cuando el resultado correcto es $\boldsymbol{\Xi}_r = 8 \pi \eta_0 \sigma_1^3 \mathbf{I}$. Análogamente, si en un modelo de N esferas todas ellas están centradas en el eje α ($\alpha = x, y$ o z), la teoría predice $\boldsymbol{\Xi}'_r{}^{\alpha\alpha} = \mathbf{0}$, mientras que el resultado verdadero debería ser no nulo.

Cuando el modelo macromolecular gira con velocidad angular $\boldsymbol{\omega}$, el movimiento de los elementos esféricos tiene dos componentes: la traslación de su centro de velocidad $\boldsymbol{\omega} \times \mathbf{r}_i$ y una rotación entorno a su centro con velocidad angular $\boldsymbol{\omega}$. Es esta segunda componente la que no se tiene en cuenta en la versión incompleta de la teoría, que resulta correcta tan sólo cuando, en general, $r_i \gg \sigma_i$, según mostraremos más tarde.

Para evitar tal defecto, algunos autores (3-5) han propuesto sustituir cada esfera por un conjunto de esferas más pequeñas, centradas cerca de la superficie de la primera. De esta manera, se consigue que las fuerzas de fricción no estén aplicadas en el centro de la esfera, sino esparcidas sobre su superficie, como realmente debe ser. El problema de este método es que se aumenta el número de elementos del modelo, con lo cual aumentan muy considerablemente los requisitos de ordenador.

En este trabajo describimos una manera sencilla de efectuar una corrección que, en parte, suprime este defecto. Los resultados obtenidos con y sin corrección se comparan con resultados exactos para modelos de dos esferas y modelos de contorno elipsoidal.

MODIFICACION DE LA TEORIA

Comencemos admitiendo que las esferas del modelo, además de trasladarse, pueden también girar en torno a sus centros con velocidades angulares ω_i . Definimos entonces un vector generalizado de velocidades (dimensión $6N$) como

$$\mathbf{U}_G = (\mathbf{u}_1, \dots, \mathbf{u}_N, \omega_1, \dots, \omega_N)^T \quad (9)$$

T indica trasposición. Además de los momentos \mathbf{T}'_i asociados a las fuerzas traslacionales, determinados por las \mathbf{u}_i , actuarán sobre las esferas unos momentos de rotación pura, \mathbf{M}_i , que estarán determinados por las ω_i . Así, podemos definir un vector generalizado ($6N$) de fuerzas

$$\mathbf{F}_G = (\mathbf{F}_1, \dots, \mathbf{F}_N, \mathbf{M}_1, \dots, \mathbf{M}_N)^T \quad (10)$$

El carácter lineal de la relación 4 debe conservarse en el caso generalizado que ahora tratamos. Una justificación detallada apareció en un trabajo de Brenner (6). Entonces, podemos escribir la relación lineal

$$\mathbf{B} \cdot \mathbf{F}_G = \mathbf{U}_G \quad (11)$$

donde \mathbf{B} es una matriz $6N \times 6N$ que puede partirse en cuatro bloques $3N \times 3N$ según

$$\mathbf{B} = \begin{pmatrix} \mathbf{B}^{tt} & \mathbf{B}^{tr} \\ \mathbf{B}^{rt} & \mathbf{B}^{rr} \end{pmatrix} \quad (12)$$

siendo, según Brenner, $\mathbf{B}^{rt} = (\mathbf{B}^{tr})^T$. Estos bloques no diagonales representan el acoplamiento traslación-rotación. No se conocen expresiones

para las matrices \mathbf{B} (porque no se ha resuelto de manera completa el problema de la interacción hidrodinámica para $N > 2$), pero sí se dispone de resultados de gran exactitud para un modelo de dos esferas. Reuland y col. (7) han obtenido expresiones para \mathbf{B}^{tt} , \mathbf{B}^{tr} y \mathbf{B}^{rr} en la forma de desarrollos en serie de potencias inversas de R_{12} , la distancia que une las dos esferas. Otros autores, como Davis (8), han estudiado el problema de las dos esferas mediante cálculo numérico.

En el contexto de la teoría original, la interacción hidrodinámica se representa mediante el tensor de interacción, \mathbf{T}_{ij} , utilizando para él una expresión procedente de cortar un desarrollo en serie después del término R_{ij}^{-1} . Si hacemos lo mismo con los desarrollos en serie de Reuland y col., obtenemos

$$\mathbf{B}_{11}^{tr} = \mathbf{B}_{12}^{tr} = \mathbf{B}_{21}^{tr} = \mathbf{B}_{22}^{tr} = \mathbf{0} \quad (13)$$

$$\mathbf{B}_{11}^{rr} = \xi_1^{-1} \quad ; \quad \mathbf{B}_{22}^{rr} = \xi_2^{-1} \quad ; \quad \xi_i = 8\pi\eta_0\sigma_i^3 \quad (14a, b, c)$$

$$\mathbf{B}_{12}^{rr} = \mathbf{B}_{21}^{rr} = \mathbf{0} \quad (15)$$

y \mathbf{B}^{tt} sigue teniendo el valor de la ecuación 3 tomando para \mathbf{T}_{ij} la fórmula de Oseen (1). Los ceros en las ecuaciones 13 y 15 indican en realidad omisión de términos del orden R_{12}^{-3} o inferiores.

Aunque sin justificación explícita, admitimos ahora que para un modelo de N esferas se cumplen expresiones como las 13-15 (Comprobaremos a posteriori la validez de esta suposición). Entonces, la matriz \mathbf{B} queda de la forma:

$$\mathbf{B} = \begin{pmatrix} \mathbf{B}^{tt} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{B}^{rr} \end{pmatrix} \quad (16)$$

Su inversa será

$$\mathbf{C} = \begin{pmatrix} \mathbf{C}^{tt} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{C}^{rr} \end{pmatrix} \quad (17)$$

La solución de la ecuación 11, $\mathbf{F}_G = \mathbf{C} \cdot \mathbf{U}_G$, puede escribirse más detalladamente utilizando las ecuaciones 9 y 10. Si tenemos en cuenta que para rotación pura $\mathbf{u}_i = \boldsymbol{\omega} \times \mathbf{r}_i$ y $\boldsymbol{\omega}_i = \boldsymbol{\omega}$ para todo i , llegamos a que las \mathbf{F}_i siguen dadas por la ecuación 5, y los momentos de rotación valen

$$\mathbf{M}_i = \xi_i \boldsymbol{\omega} \quad (18)$$

El momento total que actúa sobre la macromolécula será

$$\begin{aligned} \mathbf{T} &= \sum_i \mathbf{T}_i = \sum_i \mathbf{T}'_i + \mathbf{M}_i \\ &= \sum_i \mathbf{r}_i \times \mathbf{F}_i + \xi_i \boldsymbol{\omega} \end{aligned} \quad (19)$$

y el tensor de fricción rotacional, según la ecuación 7, será igual a

$$\Xi_r = \Xi'_r + (\sum_i \xi_i) \mathbf{I} \quad (20)$$

Teniendo en cuenta que el volumen de la macromolécula (o más propiamente de su modelo) es la suma de los volúmenes de las esferas,

$$V = \frac{4}{3} \pi \sum_i \sigma_i^3 \quad (21)$$

llegamos finalmente a que

$$\Xi_r = \Xi'_r + (6V\eta_0) \mathbf{I} \quad (22)$$

Este es nuestro resultado fundamental. En el segundo miembro de la ecuación 22, el primer término, Ξ'_r , es el resultado de la teoría original, y el segundo es la corrección aditiva que hemos obtenido en este trabajo. Puede apreciarse que la corrección es extremadamente sencilla: basta añadir a cada uno de los componentes diagonales de Ξ'_r el término $6V\eta_0$. Para macromoléculas biológicas, V debe tomarse como el volumen *hidratado*, que es determinable experimentalmente a partir, por ejemplo, del peso molecular, volumen específico parcial y grado de hidratación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para comprobar la validez de la corrección que hemos encontrado vamos a comparar sus resultados con valores exactos disponibles para dos tipos de modelos: modelos formados por dos esferas y modelos elipsoidales.

Tomamos como eje x la línea que une los centros de las dos esferas, y en el caso de elipsoides tomamos el eje mayor. En ambos casos hay simetría de revolución alrededor del eje x . Como consecuencia, son nulas las componentes no diagonales de Ξ'_r , y además $\Xi'^{yy} = \Xi'^{zz}$. Basta, pues, con considerar las componentes xx e yy . Para cada una de ellas se define un error relativo en tanto por ciento,

$$E_\alpha = 100[\Xi_r^{\alpha\alpha}(ex) - \Xi_r^{\alpha\alpha}(teor)] / \Xi_r^{\alpha\alpha}(ex) \quad ; \quad \alpha = x, y \quad (23)$$

donde (ex) indica el valor exacto y (teor) representa el valor que da la teoría original sin o con la corrección.

MODELOS DE DOS ESFERAS

Como resultados exactos tomamos los que se obtienen a partir de las ecuaciones completas de Reuland y col. (7). En las figuras 1 y 2 hemos representado los errores E_y y E_x para un sistema de dos esferas idénticas ($\sigma_1 = \sigma_2$) frente a la magnitud s , definida como

$$s = (\sigma_1 + \sigma_2)/R_{12} \quad (24)$$

Nótese que para esferas en contacto, $s = 1$. Aunque para $s < 1$ las esferas no se toquen, suponemos que permanecen unidas a través de un conector que no contribuye a la fricción. Esto es necesario para que el par de esferas se mueva como un cuerpo rígido.

Para la componente xx , al estar las dos esferas sobre el eje, los resultados sin corregir y corregidos serían, respectivamente,

$$E_r^{xx} = 0 \quad (25.a)$$

$$E_r^{xx} = 6V\eta_0 \quad (25.b)$$

En el primer caso, según la ecuación 23, el error $E_x = -100\%$. En el segundo caso, E_x crece con s , pero no llega a superar el 13%, como se aprecia en la figura 1.

En cuanto a la componente zz , los errores se encuentran representados en la figura 2. Vemos en ella cómo los resultados sin corregir son correctos ($E_z = 0$) cuando $s = 0$, esto es, en el límite $\sigma_1, \sigma_2 \ll R_{12}$. Al aumentar s , aumenta E_z en los dos casos, pero el valor absoluto del error es apreciablemente inferior para los resultados con corrección.

Hemos efectuado cálculos similares para otros valores de σ_1/σ_2 (esferas desiguales). Los resultados siguen las mismas tendencias que los que acabamos de comentar. Podemos entonces concluir que para modelos de dos esferas, la corrección que hemos propuesto produce una mejora apreciable en los dos componentes rotacionales.

MODELOS ELIPSOIDALES

Para elipsoides de revolución, es posible evaluar las dos componentes rotacionales mediante unas expresiones absolutamente exactas obtenidas por Perrin (9). Son, por ello, estructuras muy útiles para comprobar el funcionamiento de las teorías.

Los elipsoides alargados con semiejes mayor, a , y menor, b , se pueden representar bastante bien mediante modelos de esferas. Para ello se sitúa

una esfera de radio b en el centro del elipsoide, y a derecha e izquierda de ésta se van colocando esferas centradas sobre el eje mayor, con radios decrecientes. Cada esfera es tangente a sus vecinas y a la superficie del elipsoide. Finalmente, se efectúa una ligera expansión del modelo en la dirección del eje menor para que coincida su volumen con el del elipsoide. Más detalles acerca de estos modelos pueden encontrarse en la ref. (10).

Los resultados calculados para el modelo, con y sin corrección, dan lugar, respecto a los valores exactos de Perrin, a los errores representados en las figuras 3 y 4 frente a

$$p = a/b \quad (26)$$

Para E_x ocurre lo mismo que veíamos para dos esferas (ecuaciones 25a y 25b), de manera que, sin corrección, $E_x = -100\%$. Si se incluye la corrección, E_x , va desde 0 para $p = 1$ ($a = z$, el elipsoide es esférico) hasta aproximadamente un 50 % para p muy elevado, como se indica en la figura 3. Por otra parte, el error E_z de los resultados sin corregir disminuye apreciablemente al aumentar p según se aprecia en la figura 4. De hecho, para p muy elevado los resultados sin corregir son esencialmente correctos. En cuanto a los resultados con corrección, son exactos para $p = 1$; después, E_z aumenta con p , alcanzando un máximo de aproximadamente 30 % y, finalmente, tiende a cero cuando p se hace muy grande. Así, para $p < 2$, los resultados corregidos son mejores. En el intervalo $2 < p < 10$ ocurre lo contrario, y, finalmente, para $p > 10$ los errores son en cualquier caso muy pequeños.

Así, con la excepción del componente z para $p > 2$, los resultados corregidos son mejores que los no corregidos, y esta excepción se ve con creces compensada por el mejor comportamiento de la componente x sobre todo el rango de valores de p .

CONCLUSION

La corrección propuesta en este trabajo, consistente en añadir $6V\eta_0$ a los resultados de la teoría original, presenta las siguientes particularidades:

- 1) Aunque no la hayamos deducido con total rigor, parece estar bien justificada.
- 2) Es extremadamente sencilla.
- 3) Mejora apreciablemente los resultados para modelos de dos esferas con tamaño y separaciones cualesquiera y para modelos de muchas esferas con contorno elipsoidal.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue parcialmente financiado mediante una subvención de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (Proyecto 4073/79).

BIBLIOGRAFIA

1. J. GARCÍA DE LA TORRE y V. A. BLOOMFIELD, *Quarterly Reviews of Biophysics*, 14, 81 (1981).
2. H. BRENNER, *J. Colloid Interface Sci.*, 23, 407 (1967).
3. E. SWANSON, D. C. TELLER y C. DE HAEN, *J. Chem. Phys.*, 72, 1623 (1980).
4. R. WILSON y V. A. BLOOMFIELD, *Biopolymers*, 18, 1205 (1979).
5. J. M. GARCÍA BERNAL y J. GARCÍA DE LA TORRE, *Biopolymers*, 20, 129 (1981).
6. H. BRENNER y M. E. O'NEILL, *Chem. Eng. Sci.*, 27, 1421 (1972).
7. P. REULAND, B. U. FELDERHOFF y R. B. JONES, *Physica*, 93A, 465 (1978).
8. M. H. DAVIS, *Chem. Eng. Sci.*, 24, 1769 (1969).
9. F. PERRIN, *J. Phys. Radium*, 7, 1 (1936).
10. J. GARCÍA DE LA TORRE y V. A. BLOOMFIELD, *Biopolymers*, 16, 1747 (1977).

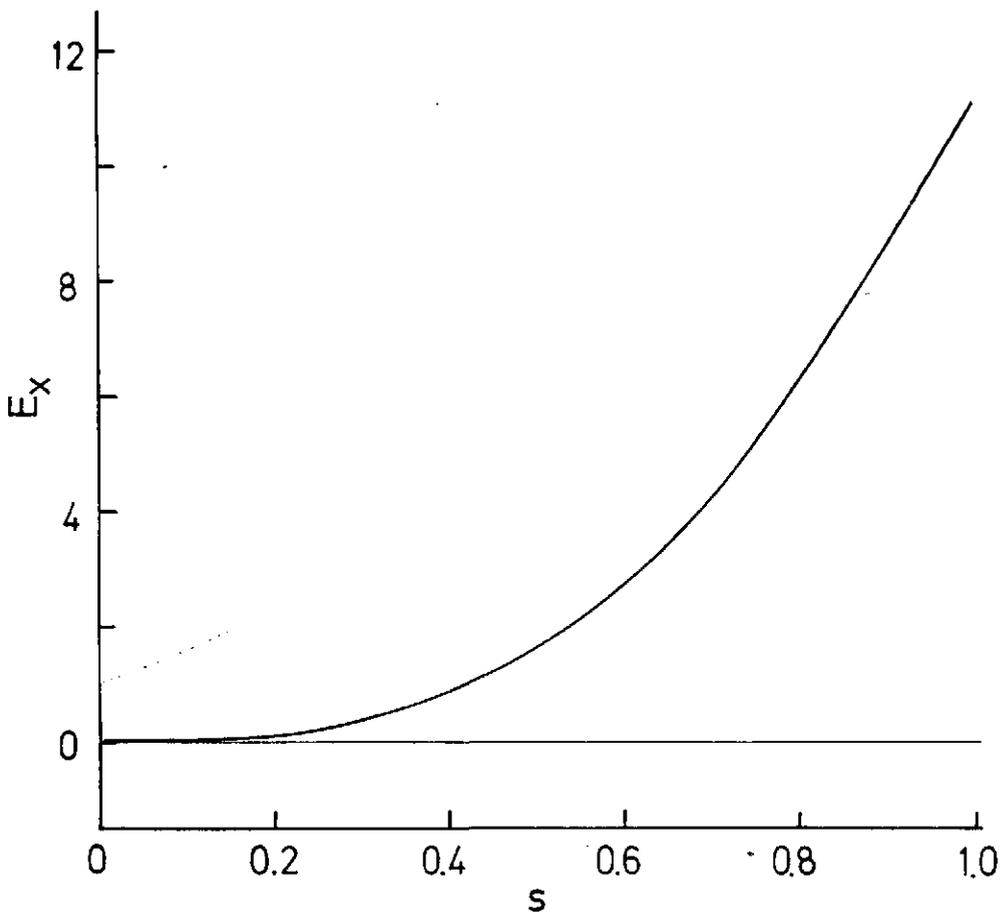


FIGURA 1.—Tanto por ciento de error del componente xx del tensor de fricción traslacional, E_x , de un modelo de dos esferas, frente a $s = (\sigma_1 + \sigma_2)/R_{12}$. Trazo continuo: resultados con corrección. Para los resultados no corregidos el error es del -100% . Con trazo fino se indica la línea de error nulo.

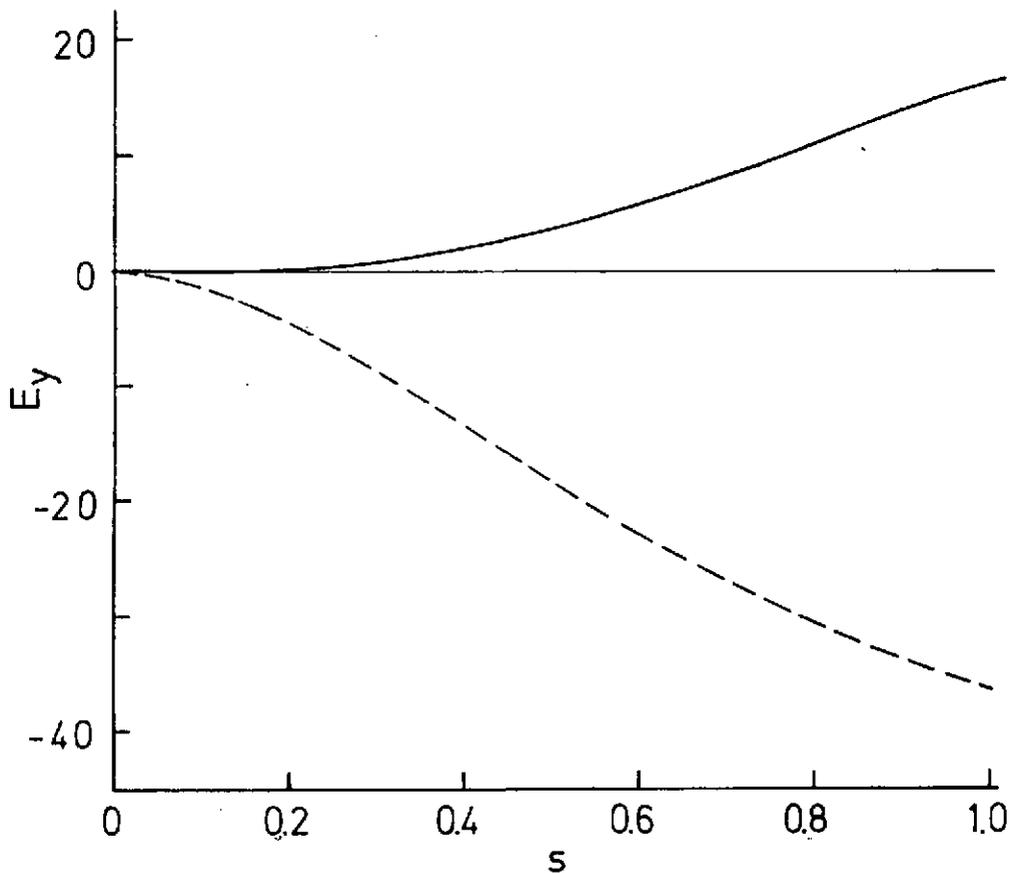


FIGURA 2.— E_y del modelo de dos esferas frente a s . Trazo continuo: resultados con corrección. Trazo discontinuo: resultados sin corrección.

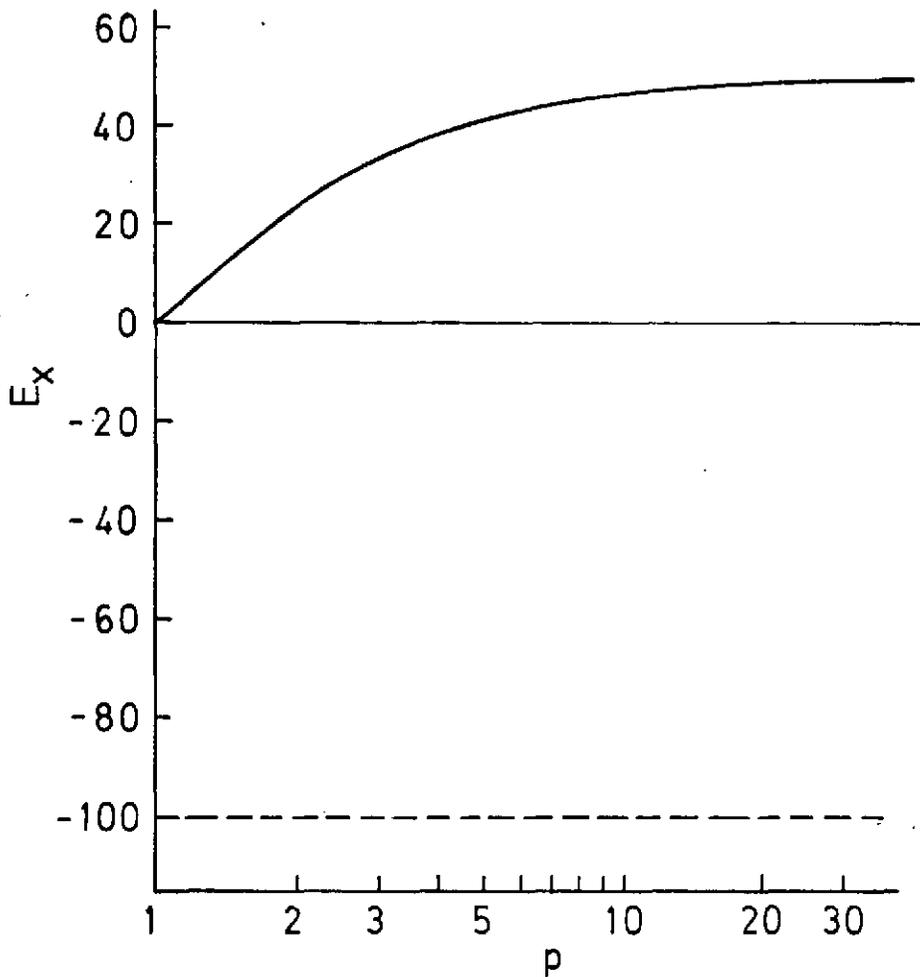


FIGURA 3.— E_x de elipsoides frente a p . Trazos como en las figuras 1 y 2. Nótese que la escala de p es logarítmica.

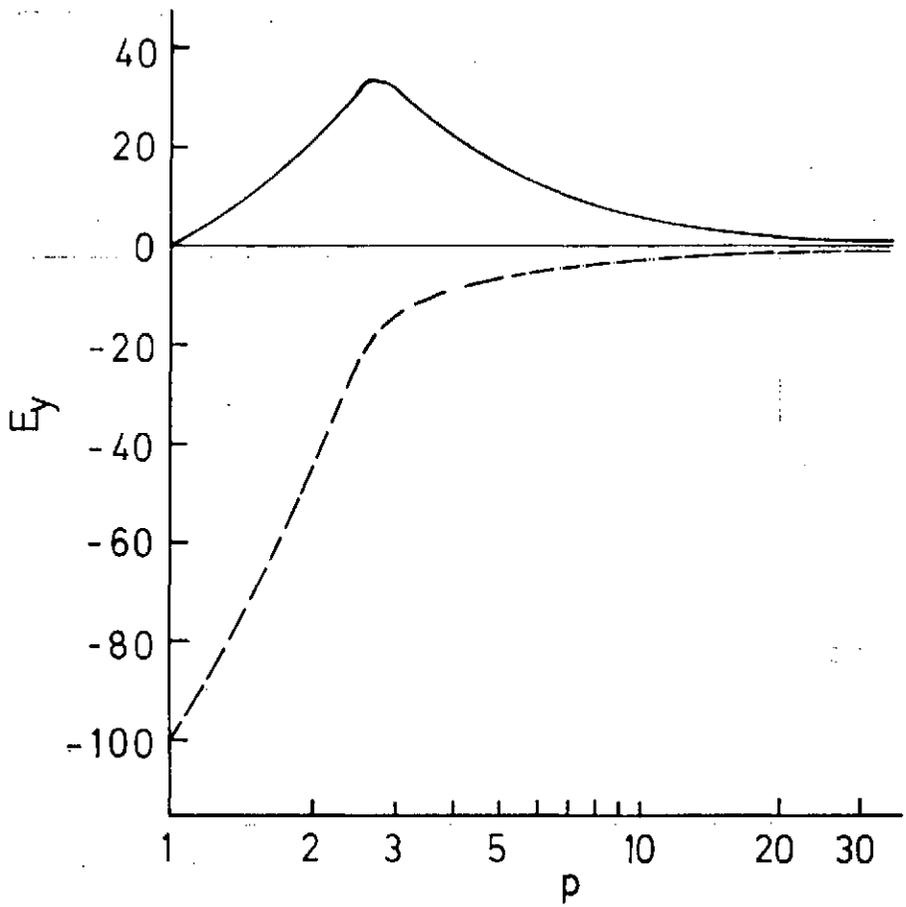


FIGURA 4.— E_y de elipsoides frente a p . Trazos como en las figuras 1 y 2.