



XXXII. OTDK
2015
Kémia és Vegyipar Szekció



A Calsequestrin-fehérjehálózat hatása
kalciumcsatornákon keresztül történő iontranszport
erősségére

Készítette: Fertig Dávid

Kémia BSc, III. évfolyam

Témavezető: Dr. Boda Dezső

Egyetemi docens

Pannon Egyetem Mérnöki Kar
Kémiai Intézet, Fizikai Kémiai Intézeti Tanszék

Pannon Egyetem, Veszprém

2014

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	5
2. Modell	10
3. Módszer	14
3.1. Monte Carlo szimulációk	14
3.2. Az LEMC módszer	15
3.3. Az LEMC szimuláció csatolása az NP egyenlethez	17
4. Eredmények	20
5. Összefoglalás	31

Kivonat

Az izomsejtekben az izomösszehúzódást a szarkoplazmikus retikulumból (SR) nagy mennyiségben felszabaduló kalcium ionok okozzák. Ezek az ionok a Ryanodin Receptor (RyR) kalciumcsatornákon keresztül szabadulnak fel, a nagy fluxust pedig az SR és az izomsejt közötti nagy koncentrációkülönbség okozza. Az SR-ben a kalcium egy Calsequestrin (Casq) fehérjehálózatban tárolódik. Ezek a henger alakú fehérjék kalcium kötőhelyekkel és nagy negatív felületi töltéssűrűséggel rendelkeznek.

Az ionáram növekedését a feltételezések szerint azonban nem csak az ionkoncentráció növekedése okozza az SR oldalon, hanem szerepet játszik a dimenziócsökkenés általi diffúziógyorsulás (Diffusion Enhancement by Reduction of Dimensionality, DERD) is. Eszerint ha egy három dimenziós térben valamilyen részecske diffundál, hatékonyabb és gyorsabb lesz a diffúzió, ha a teljes tér helyett egy adott felület mellett halad az adott anyag. Három dimenzióban a megtett út nagysága a szabad diffúzió végett sokkal nagyobb lehet, mint a kiindulási- és a végpont távolsága.

Dolgozatomban egyszerű modellt alkottam a RyR ioncsatornához kapcsolt Casq fehérjére és a fenti jelenséget vizsgáltam a Nernst-Planck (NP) transzportegyenlet és Lokális Egyensúlyi Monte Carlo (LEMC) szimulációk segítségével. Az NP egyenlet szolgáltatja a fluxust, míg az LEMC módszer az NP egyenletben szereplő mennyiségek (koncentráció és elektrokémiai potenciál) közötti kapcsolatot írja le. Vizsgálataim fő célja az volt, hogy szétválasszam az ionkoncentráció növekedése illetve a DERD miatt létrejövő áramnövekedést. Számításaim azt mutatták, hogy nagyobb az áram, ha az ionkoncentrációt növelő töltést egy henger felületén helyezem el, szemben azzal amikor ugyanezt a töltés tértöltésként (szabadon mozgó ionokon) van jelen a rendszerben. Eredményeim tehát alátámasztják a DERD jelenségét.

Abstract

In muscle cells, the release of a great amount of calcium from the sarcoplasmic reticulum (SR) initiates muscle contraction. The ions are released through the Ryanodine-receptor calcium channels. The flux of calcium ions is driven by their concentration gradient between the SR and the muscle cell. Calcium is stored in the Calsequestrin protein network in the SR. These cylindrical proteins have Calcium-binding sites and have large negative surface charge density.

The ionic flux is increased not only by the increased ionic concentration inside the SR, but also by the reduction of dimensionality. In the phenomenon of the „Diffusion Enhancement by Reduction of Dimensionality” (DERD), the diffusion is faster and more efficient if the ions do not diffuse in the three dimensional space, but they diffuse near a surface instead. In three dimensions, the distance travelled by the ions may be greater than the distance between the starting point and the ending point.

In this dissertation, I created a simple model for the Calsequestrin protein network attached to the Ryanodine-receptor to examine the DERD effect by the Nernst-Planck (NP) transport equation and the Local Equilibrium Monte Carlo (LEMC) simulation method. The NP equation computes the flux, while the LEMC method provides the relation between the concentration and the electrochemical potential that are the input parameters of the NP equation. The object is to separate the increase of current caused by the growth of the ionic concentration and the increase of current caused by the DERD effect. My calculations showed that the current is larger if I place the charges on the surface of a cylinder compared to the case when these charges are space charges (represented by free mobile ions) in the system. My results, therefore, confirm the DERD effect.

A dolgozatban használt rövidítések jegyzéke:

SR - szarkoplazmatikus retikulum (*sarcoplasmic reticulum*)

RyR - Ryanodin-receptor

Casq - Calsequestrin

DERD - dimenziócsökkentés általi diffúziógyorsulás (*diffusion enhancement by reduction of dimensionality*)

NP - Nernst-Planck

LEMC - Lokális Egyensúlyi Monte Carlo (*Local Equilibrium Monte Carlo*)

NP+LEMC - Nernst-Planck egyenlet és Lokális Egyensúlyi Monte Carlo csatolása

PNP - Poisson-Nernst-Planck

GCMC - Nagykanonikus Monte Carlo (*Grand Canonical Monte Carlo*)

DFT - sűrűségfunkcionál-elmélet (*density functional theory*)

DMC - Dinamikus Monte Carlo

MC - Monte Carlo

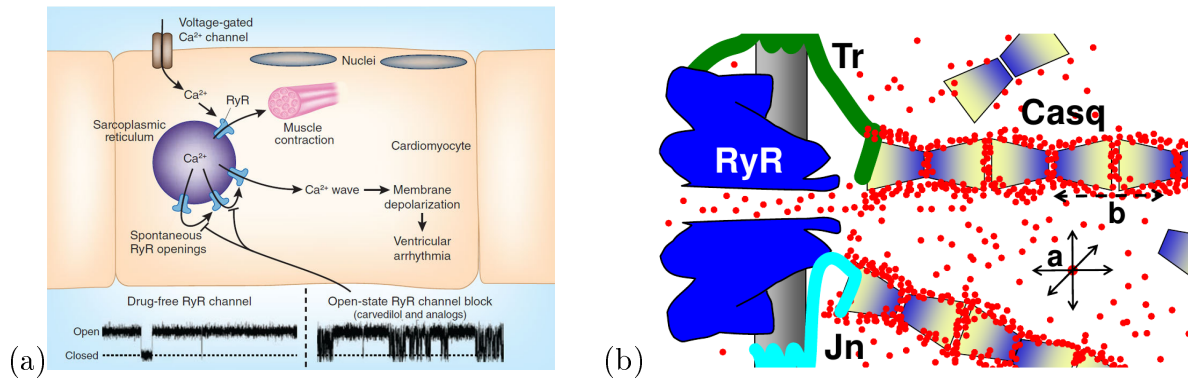
PB - Poisson-Boltzmann

1. fejezet

Bevezetés

Egy ioncsatorna a sejtek membránjába ágyazódott átjárónak tekinthető, amin keresztül zajlik le az élő szervezet számára nélkülözhetetlen ionok transzportja. Az ioncsatornák kétféle állapotban lehetnek: nyitott és zárt, ez utóbbi jellemző a legtöbb ioncsatornára nyugalmi állapotban. Anyagtranszport nem megy végbe, ha a csatorna zárt állapotú. Az iontranszport megindulásához a csatorna megnyílik, amihez külső inger szükséges, melyet a sejt elektromos, kémiai vagy mechanikai jel formájában juttat el a csatornához. Ezeknek egyik fő csoportja az ún. feszültségvezérelt ioncsatornák, állapotuk a membránpotenciál megváltozásától függenek - elektromos ingerület hatására nyit a csatorna [1]. Ilyen például a kalciumcsatorna (Ca-csatorna). Ezeknek az idegrendszer működésében és az izomösszehúzódás generálásában van fontos szerepe.

Az idegvégződésnél lévő Ca-csatorna az axonon keresztül érkező elektromos ingerület hatására kinyit, mely neurotranszmittereket szabadít fel, aminek hatására két idegrost között kémiai jelként továbbítódik az információ. Ez a következő axonon elektromos ingerületté alakul vissza. Amint ez a jel az izomszövethez ér, megnyitja az izomsejt membránjában lévő L-típusú Ca-csatornákat [2], ezáltal Ca^{2+} ionok áramlanak a sejtbe. Ezek az ionok nyitják ki a szarkoplazmatikus retikulum (SR) membránjában található Ryanodin-receptorok (RyR) Ca-csatornákat, amelyek nagy mennyiségben engednek Ca^{2+} -ot a sejtbe (ld. 1.1a ábra). A Calsequestrin (Casq) a fő Ca^{2+} -tároló fehérje a szív- és vázizomsejtekben, nagy mennyiségű Ca^{2+} iont tárol a SR-ban [3]. Ebből szabadul fel a kellő mennyiségű ion, ha testünkkel valamilyen mozgást hajtunk végre [4]. A Casq fehérje az SR-en belül oligomerizálódni képes, az oligomerek száma pedig attól függ, hogy mennyi Ca^{2+} van jelen, ld. 1.2 ábra [5–7]. A Casq nagyon nagy iontároló kapacitással rendelkezik, 1 mol Calsequestrin 40-50 mol Ca^{2+} -t képes megkötni [4]. Az emberi Casq-nek vannak kis és nagy



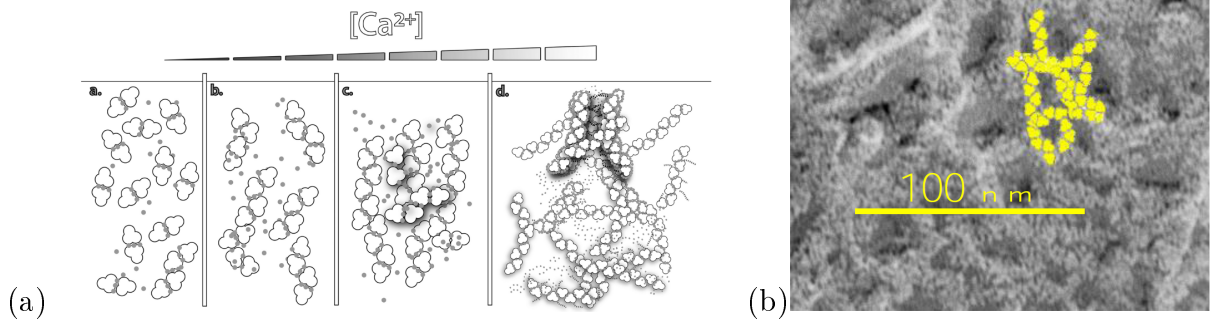
1.1. ábra. (a) Az izomösszehúzódáshoz vezető folyamat szemléltetése. (b) A Calsequestrin SR-hez rögzülése. A DERD jelenség két dimenziós reprezentálása. A térben mozgó ionok (a) nehezebben jutnak el a csatornába, mint a Casq felületén mozgó ionok (b). (az ábrákat E. Ríos szolgáltatta)

Ca^{2+} -affinitású kötőhelyei [7].

A Casq fehérje az SR-en belül sűrű hálózatot képez, a Casq-polimer láncok lineárisnak tekinthetők, elágazásokkal. A polimerlánc az SR membránjához kapcsolófehérjékkel rögzül (1.1 ábra). A membránba ágyazódott Ryr-hoz közeli rögzítőfehérje két típusú lehet, Triadin és Junctin (Tr és Jn).

Az, hogy egy fehérje mellett, egy felületen tud diffundálni a Ca^{2+} , gyorsabb diffúziót biztosít, mintha a teljes sejtszervből áramolna ki a RyR-en keresztül az ion. A biológiában sokszor hasznos, ha valamilyen anyag a lehető legrövidebb úton, illetve legrövidebb idő alatt jut el A pontból B pontba [8]. Az AB távolság azonban a diffundáló anyag méretéhez képest nagyságrendekkel nagyobb lehet, pl. feromonmolekulák terjedése több kilométeres távolságban. Adam és Delbrück [9] a Fick II. egyenlet megoldásával megmutatták, hogy a diffúziós idő nagysága csökken a dimenziószám csökkenésével. Stacionárius esetben a diffúzió gyorsaságát a csatornán egységnyi idő alatt áthaladt részecskék mennyiségével, azaz a részecskeárammal, avagy fluxussal jellemezzük. A fluxus számolható a Fick II. egyenlet megoldásával, a Nernst-Planck (NP) transzportegyenlet segítségével vagy szimulációval. Ha nő a fluxus, akkor ez a diffúzió gyorsulását jelenti.

A tapasztalatok azt mutatják, hogy ha Casq van jelen a rendszerben, a kalciumáram megnő. Ennek két oka lehet. Az egyik, hogy a Casq-fehérje, mint Ca^{2+} -puffer hat, tehát több áramolni képes ion van jelen (az NP egyenletben a koncentráció ott szerepel, az áram tehát arányos a koncentrációval). A másik a dimenziócsökkenés miatt fellépő diffúziógyorsulás (*diffusion enhancement by reduction of dimensionality*, DERD) jelensége (ld. 1.2b ábra). Dolgozatom fő célja, hogy ezt a két hatást vizsgáljam. Fontos célkitűzés továbbá,



1.2. ábra. (a) Ca^{2+} -koncentráció növekedésének hatására bekövetkező Casq-oligomerizáció [4]. (b) A Casq-hálózat mikroszkópos képe (az ábrát E. Ríos szolgáltatta).

hogy a két jelenséget megpróbálom szétválasztani.

Anyagáramsűrűségnek nevezzük az egységnyi idő alatt az egységnyi felületen átáramlott anyagmennyiséget. Ha feltesszük, hogy a transzport diffúzióval játszódik le a rendszerünkben, akkor felírható a tapasztalati NP egyenlet:

$$-kT\mathbf{j}^\alpha(\mathbf{r}) = D^\alpha(\mathbf{r})c^\alpha(\mathbf{r})\nabla\mu^\alpha(\mathbf{r}), \quad (1.1)$$

ahol $\mu^\alpha(\mathbf{r})$ az α -adik ionra vonatkozó elektrokémiai potenciál, $\mathbf{j}^\alpha(\mathbf{r})$ az áramsűrűség, $c^\alpha(\mathbf{r})$ a koncentráció T a hőmérséklet, $\nabla\mu^\alpha(\mathbf{r})$ pedig a kémiai potenciál gradiense, azaz a diffúzió termodinamikai hajtóereje, k a Boltzmann-állandó (1.38×10^{-23} J/K). A csatornán átfolyó teljes elektromos áram nagysága:

$$I = \sum_{\alpha} q^\alpha J^\alpha, \quad (1.2)$$

ahol J^α a z irányú, $A(z)$ keresztmetszeten áthaladó teljes fluxus az adott ionra:

$$J^\alpha = \int_{A(z)} \mathbf{j}^\alpha \cdot \mathbf{n}_z dA = \int_{A(z)} (j^\alpha)_z dA, \quad (1.3)$$

ahol $\mathbf{n}_z$ az áramlás irányára merőleges normálvektor, $A(z)$ a teljes felület, amire integrálunk. Kísérleti úton csak a teljes elektromos áram határozható meg elektrofiziológiai mérésekkel, ellenben a modell segítségével meghatározható az egyes ionok fluxusa.

A Ca-csatorna részletes szerkezete nem ismert (nehéz magát a membránfehérjét kikristályosítani a röntgendiffrakciós vizsgálathoz), ezért a szimulációs vizsgálathoz egyszerű modelleket alkotunk, mellyel a transzportfolyamat vizsgálható [10–19]. Az ioncsatornák szelektivitását egy szűk térrész, a szelektív szűrő dönti el. Pontmutációs kísérletekből [20–22] a

szelektív szűrőben levő fehérjékről rendelkezünk információval. A Ca^{2+} -csatornák esetében a szűrő és környéke negatívan töltött aminosavakban gazdag régiók.

Az L-típusú Ca^{2+} -csatorna szimulációs modelljét először Corry és *mtsai*. [23–26] vizsgálták. Az oldószer, a dolgozatéhoz hasonlóan, dielektromos közegként volt jelen, a csatornát egy pórussal rendelkező elnagyolt objektumként modellezték, melynek alakját egy K-csatorna alapján alkották meg. A modell vizsgálatához szimulációs módszerként Brown-dinamikát alkalmaztak.

Egy másik módszer a Poisson-Nernst-Planck (PNP) egyenlet alkalmazása. A NP egyenletet oldják meg - amihez szükség van a megfelelő elektrokémiai potenciál- és koncentráció-profilokra. A PNP elmélet az ionokat pontszerűnek feltételezi, és a koncentráció valamint a kémiai potenciál közötti összefüggést a Poisson-Boltzmann (PB) elmélet szolgáltatja. Ebben az elméletben az ionok eloszlása által adott töltéeloszlás és az átlagos potenciál ($\Phi(\mathbf{r})$) között fennáll a Poisson-egyenlet, míg a részecskeprofilokat a Boltzmann-eloszlás írja le. Az elektrolitoldat ideális oldatként viselkedik. A Ca-csatorna vizsgálatára nem alkalmas, mivel a Boltzmann-eloszlás nem tartalmaz ionkorrekciókat (pl. ionok mérete), ezek kihagyása pontatlan eredményeket szolgáltatna. Ez a módszer viszont alkalmas a mesterséges nanopórusok vizsgálatára [27–30].

Eisenberg és Nonner úgy vélte [19], hogy a szelektív szűrő aminosav-oldalláncain lévő COO^- csoportok viszonylag flexibilisen mozoghatnak és zsúfolttá teszik a szűrőt. Ez, a korábbi modellekhez képest előrehaladás, és közelebb áll a valósághoz. A két kutató azt javasolta, hogy a COO^- két oxigénjét $-1/2e$ -es töltésű oxigénionnal modellezzék, melyek a szűrőben szabadon mozoghatnak, azt azonban nem hagyhatják el. Az oxigéneket, hasonlóan a többi rendszerben levő ionhoz, töltött merevgömbökkel modellezték, amelyek egy ϵ dielektromos állandójú közegben mozoghatnak. Ez az elektrolitok primitív modellje (PM), dolgozatomban én is ezt használom.

Boda Dezső 2000-től kapcsolódott be a kutatásokba, eleinte nagykanonikus sokaságú Monte Carlo (GCMC) szimulációk használatával [31–34] és a NP-egyenlet integrált alakjából vont le következtetéseket a transzporttulajdonságokra [16, 35]. A szimulációk olyan elektrolit elegyeket is jól kezeltek, ahol valamely komponens rendkívül kis koncentrációban van jelen ($c < 10^{-5}\text{M}$) [36]. A vizsgálatok tárgya az L-típusú Ca-csatorna volt. Gillespie a RyR Ca-csatornára alkotott hasonló modellt [17, 18, 37], mely szintén reprodukált sok korábbi kísérleti adatot. A modellt egydimenziósra redukálta, és erre használta az NP egyenletet. Gillespie nem a Boltzmann-eloszlást használta a koncentráció és a kémiai potenciál kapcsolatára, hanem a sűrűségfüggvény-elméletet (*Density Functional Theory*,

DFT) fejlesztette tovább ioncsatornákra. Ez reprodukálta a korábbi szimulációs adatokat, ellenben nagy hátránya, hogy csak egy dimenzióban használható. Az eredményei rámutattak az NP-egyenlet hatékonyságára, valamint arra, hogy a kémiai potenciál és a koncentrácioprofil statisztikus mechanikai viszonyára egy új módszer fejlesztése szükséges.

Rutkai és *mtsai*. [38] a Dinamikus Monte Carlo (DMC) módszert választották. A módszer MC-elmozdítást használ a valódi dinamikai lépések utánzására. A Brown-dinamikával szemben előnye, hogy könnyebb vele merevgömb-maggal rendelkező rendszereket szimulálni, ellenben nem alkalmas valós trajektóriák szimulálására, és csak relatív fluxusok számolhatók.

A diffúzió folyamán a részecskék impulzusátadás nélkül transzportálódnak egyik tömbfázisból a másikba. Ha a részecskék töltetlenek, a diffúziót ideális oldatra Fick I. törvénye írja le, töltött részecskék esetén ideális és reális esetben egyaránt az NP-egyenlet. Ha a rendszer megalkotásánál figyelembe vennénk az impulzusmegmaradást, akkor a bonyolultabb hidrodinamikai egyenleteket használnánk fel a modellezésre, ez pedig lassítaná a szimulációs folyamatot. Így csak az anyagmegmaradást vesszük figyelembe.

Az NP egyenlet fő hátránya, hogy a diffúziós állandó értékét illeszteni kell - ezt dinamikai szimulációs eredményekhez vagy kísérleti adatokhoz illesztjük. Továbbá, kell még két mennyiséget számolni, a koncentrációt és az elektrokémiai potenciált. A Gillespie által kifejlesztett DFT nem használható három dimenzióban bármilyen rendszerre, így felmerült az igény egy olyan szimulációs módszerre, ami erre képes. Boda és Gillespie [13] egy olyan MC módszert fejlesztett, amiben a rendszer nincs globális egyensúlyban. A rendszert kis elemi cellákra osztották fel és az elemi cellákban különböző elektrokémiai potenciálokat feltételeztek. A GCMC szimulációt ilyenkor ugyanúgy hajtjuk végre, mint a globális esetben csak az elemi cellákban a lokális kémiai potenciált használjuk a részecskebehelyezés/kivétel elfogadási kritériumában. A rendszer egy ilyen cellája lokális egyensúlyban van, ezt nevezzük Lokális Egyensúlyi Monte Carlo-nak (LEMC). A dolgot az NP egyenlethez csatolt LEMC szimulációkat (NP+LEMC) használom a folyamatok modellezésére.

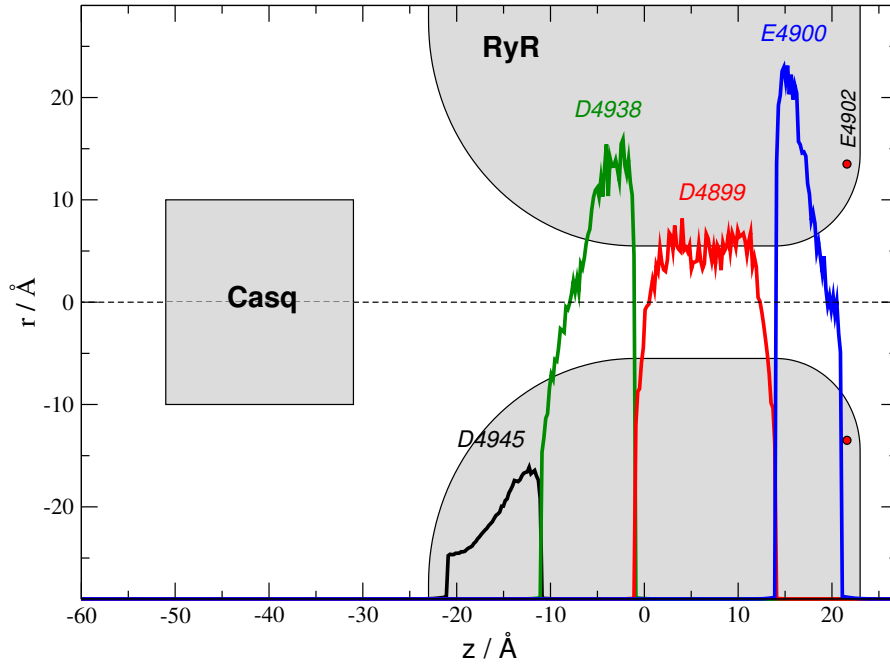
A közvetlen szimulációs módszerek (pl. Brown-dinamika, DMC, molekuláris dinamika és Langevin-dinamika) a részecskék mozgását és a rendszer dinamikai viselkedését közvetlenül vizsgálják. A membrán két oldalán lévő kontrollcellákban az eltérő koncentrációkat GCMC szimulációkkal biztosítjuk, az így biztosított koncentrációkülönbség a transzportot hajtóereje. Előnyük, hogy nem kell a diffúziós együtthatót illeszteni, mivel a dinamikát közvetlenül szimulálja a módszer.

2. fejezet

Modell

Ebben a fejezetben bemutatásra kerül az általam használt modell (2.1 ábra). A kutatócsoport alapelve, hogy a modell legyen a lehető legegyszerűbb, miközben tartalmazza a vizsgált jelenség szempontjából alapvető fizikai jellemzőket. A tömbfázist két részre osztja egy membrán, amibe beágyazódva helyezkedik el a fehérje, melyen keresztül vezet a csatorna a bal oldali tömbfázisból a jobb oldaliba. A rendszer hengerszimmetrikus, az tengely körül megforgatva kapjuk a 3D-modellt. A bal oldali tömbfázisban található a Casq-ot modellező töltött palástú henger.

A csatorna középső, henger alakú része megfelel a RyR Ca-csatorna szelektív szűrőjének. A szelektív szűrő sugara $R_1 = 5.5 \text{ \AA}$, hossza $H_1 = 15 \text{ \AA}$. A szűrő előszoba tartományai különböznek, ez a fehérje asszimmetriájából adódik. A bal oldali előszoba görbületi sugara $22 \text{ \AA}$, míg a jobboldalié $9 \text{ \AA}$. Génmutációs kísérletek alapján ismert [20–22], hogy a szűrőben négy darab aszparaginsav oldallánc található (D4899), melyek karboxil-csoportjai a pórus közepe felé állnak. Így összesen $-4e$ elemi töltéssel rendelkezik a szűrő. Az előszobákban további aminosavakat azonosítottak (D4945, D4938, E4900, E4902), amiket a modellünk szintén figyelembe vesz. Mivel az ioncsatorna 4 azonos alegységből áll, minden aminosavból négy található a csatornában. Az aminosavak karboxilcsoportjait nyolc darab, $-1/2e$ töltéssel rendelkező merev gömbként modelleztünk, ezekből összesen $4 \times 8 = 32$ db van – ezek felelnek meg a karboxilát-anion mezomer effektusából adódó feles töltésű oxigéneknek (2.2 ábra). Átmérőjük $2.8 \text{ \AA}$. A töltött gömbök nem hagyhatják el a csatornát, de a szűrőn belül szabadon mozoghatnak. Az ötödik aminosav a szűrőn kívül van, a membrán falába ágyazva, ponttöltéssel modellezve (E4902). Ezek biztosítják a csatorna negatív töltését. A RyR csatorna modelljét a témavezetőm kutatócsoportja fejlesztette ki [10] Gillespie modellje [16–18] alapján. Munkám során a Casq-ot reprezentáló töltött hengert adtam hozzá



2.1. ábra. A Casq-ot reprezentáló henger és a RyR Ca-csatorna modellje. A Casq palástján ponttöltéseket helyeztem el egy háló pontjaiban. A RyR Ca-csatornában jelen lévő aminosavak eloszlását az ábra mutatja. Ez a modell Gillespie RyR-modellje [16–18] alapján készült és kísérleti áram-feszültség görbéket képes reprodukálni [10]. A 3D modell ezen ábra z -tengely körüli megforgatásával készül.

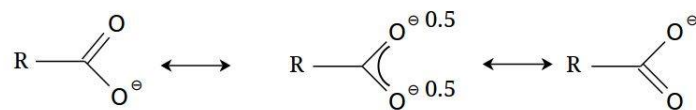
a modellhez.

A henger hosszúsága $20 \text{ \AA}$, sugara $10 \text{ \AA}$. A henger a $-50 \text{ \AA} \leq z \leq -30 \text{ \AA}$ intervallumban helyezkedik el. Ha a henger felületén helyezem el a töltést, megfelelő töltéeloszláshoz a palástot fel kell osztani több darabra ($2 \times 2 \text{ \AA}^2$ -es felületelemekre), és azokon elosztani a töltést (ezzel kvázi homogén töltéelosztást biztosítani a felületen). Tértöltések alkalmazásakor a hengerrel egy intervallumba eső térrészben, mozgékony szabad ionokként helyezem el a töltéseket (2.3 ábra).

A kölcsönhatásokat a töltött merevgömb modellel definiáljuk:

$$u(r_{ij}) = \begin{cases} \infty & \text{ha } r_{ij} < R_i + R_j \\ \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} & \text{ha } r_{ij} \geq R_i + R_j \end{cases}, \quad (2.1)$$

ahol R_i és R_j az ionsugarak, ϵ_0 a vákuum permeabilitása, ϵ az oldószer relatív permittivitása, r_{ij} az ionok tömegközéppontjai közötti távolság, q_i és q_j az ionok töltése. A felső

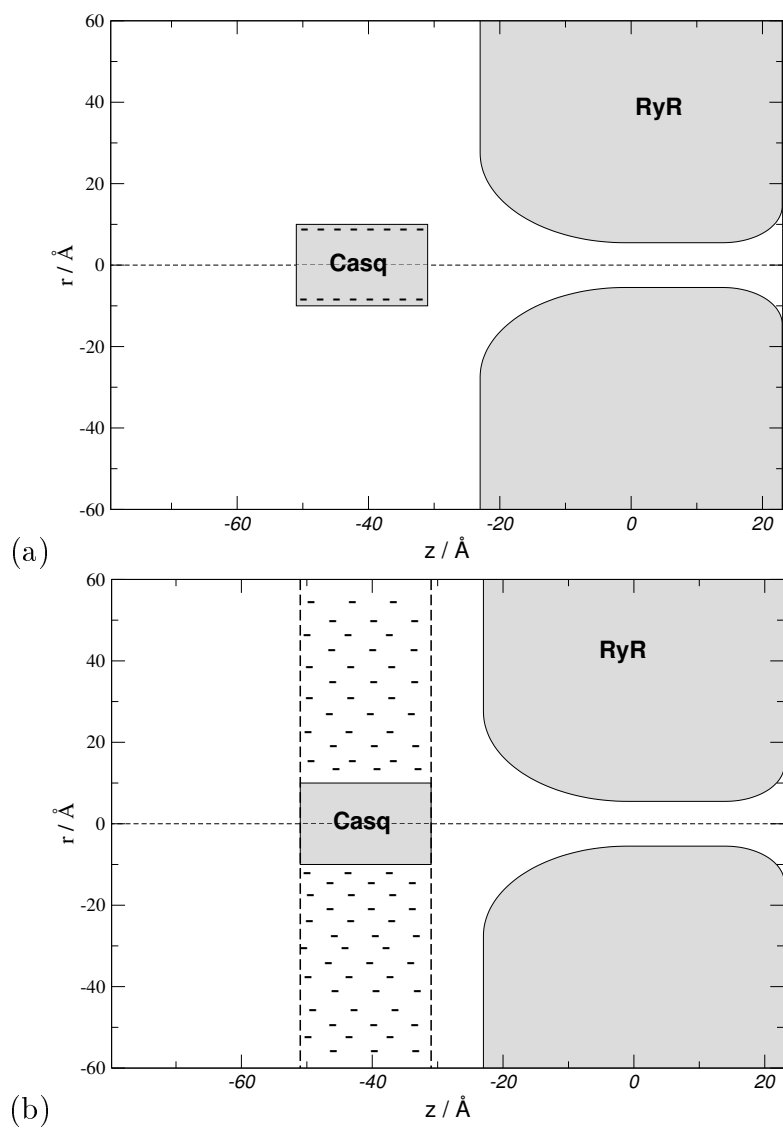


2.2. ábra. A karboxilát-anion mezomer határformái

sor a merevgömb potenciált adja, ami két merevgömb átlapolódását tiltja (hasonló potenciál tiltja a merev gömbök és merev falak, pl. a fehérje, a membrán vagy a Casq falával való átlapolódását), a második sor az ionok középpontjában lévő ponttöltések között ható árnyékolt Coulomb-kölcsönhatást adja.

Az ionok az oldószerben (víz) helyezkednek el, de a vízmolekulákat nem diszkrét molekulaként, hanem egy $\epsilon = 78.5$ dielektromos állandójú közegként, kontinuus modellként kezeljük. A hőmérséklet $T = 298.15\text{K}$.

A megoldási tartományt határoló henger sugara $50 \text{ \AA}$, hossza $140 \text{ \AA}$ volt. A megoldási tartományon kívül $10 \text{ \AA}$ széles tömbfázisú tartományt szimuláltunk mind a bal (L) és jobb (R) oldalon, ahol globális egyensúlyt feltételezünk és a kémiai potenciálok állandók (ezek a kontrollcellák). Az elemi cellák $2 \times 2 \text{ \AA}^2$ méretű négyzetek a z, r koordináta-rendszerben. Ha megforgatjuk ezt a hálót, 3D-ben gyűrű alakú elemi cellákat kapunk. Ezt a gyűrűt nem osztjuk tovább a forgásszimmetria miatt. Ez jelentős számítógép-idő megtakarítást tesz lehetővé.



2.3. ábra. (a) Felületi töltések alkalmazása a henger palástján (b) Tértöltések alkalmazása a hengerrel egy intervallumban lévő térrészben

3. fejezet

Módszer

3.1. Monte Carlo szimulációk

Az MC módszer egy sztochasztikus szimulációs eljárás, amelyben a konfigurációs tér mintavételezésére statisztikai eljárást alkalmazunk [39, 40]. E térből vett mintákat nem az egyenletes eloszlás szerint sorsoljuk (minden állapot beválogatásának azonos a valószínűsége), hanem a valószínűbb állapotokat nagyobb valószínűséggel válogatjuk be a mintába. Ezt fontosság szerinti mintavételezésnek nevezzük (*importance sampling*).

A Metropolis-mintavételezésnél [41] egy random, a térben levő részecskét véletlenszerűen sorsolt új pozícióba mozgatunk, ennek a mozgatásnak kiszámoljuk az energiaváltozását (ΔU), majd ezt a mozgatást egy jól definiált kritérium alapján elfogadjuk vagy elutasítjuk. Ha a mozgatás után a rendszer belső energiája csökkent, a lépést automatikusan elfogadjuk, ellenkező esetben $p = \exp(-\Delta U/kT)$ valószínűséggel fogadjuk el a műveletet. A fent definiált részecskeelmozdítás LEMC módszer esetén is megjelenik, kissé módosított formában. A szimulációs lépéseket úgy kell megtervezni, hogy érvényes maradjon a mikroszkopikus reverzibilitás feltétele.

A szimulációt mindig egy adott, jól definiált geometriájú cellában végezzük. A tömbfázis szimulációja során a tér mindhárom irányába periodikus határfeltételt alkalmazunk. Inhomogén rendszer vizsgálatánál a periodicitást csak azon dimenziókban szükséges alkalmazni, amelyre nézve az adott tulajdonság homogén. A dolgozatban nem használunk periodikus határfeltételt, a cella véges, henger alakú. A rendszer határain feltételeket írunk elő az elektrokémiai potenciálra.

A kezdeti állapot - mivel véletlenszerűen előállított - nem szükségszerűen van az egyensúlyi állapot közelében, ezért egy egyensúlyba hozatali periódus kell a szimuláció elejére,

csak ezután következik azon rész, ahol az átlagolást elvégezzük.

GCMC eljárás esetén (nagykanonikus sokaságot tekintve μ^α , V és T állandó) minden komponens kémiai potenciálja (μ^α), rögzített a rendszerben. Ebben az esetben a részecskemozgatások mellett további MC lépések végrehajtása szükséges. A részecskék száma fluktuál, következésképpen a szimuláció folyamán a részecskék mennyiségét véletlenszerűen változtatni kell. Definiálni kell tehát egy olyan folyamatot, ami során egy random helyre beteszünk, illetve elveszünk egy véletlenszerűen választott részecskét. Ezeket a lépéseket jól meghatározott valószínűségekkel fogadjuk el, ami az energiaváltozástól és a kémiai potenciáltól függ.

3.2. Az LEMC módszer

A NP egyenlet megoldásához összefüggést kell találni a koncentráció, $c^\alpha(\mathbf{r})$, és az elektrokémiai potenciál, $\mu^\alpha(\mathbf{r})$ között. Az LEMC szimulációs módszert e célból használjuk fel. A rendszert felosztjuk kis elemi cellákra, és ezeket a cellákat nyitott, nagykanonikus sokaságú rendszereknek tekintjük. A rendszeren GCMC szimulációt hajtunk végre, de a kémiai potenciál cellánként különböző. A módszer bemeneti paramétere a kémiai potenciál, amit bemenetként adunk meg, a szimuláció kimenete pedig a koncentráció.

LEMC módszer esetén nincs egyensúlyban a rendszer, így az elektrokémiai potenciál a térben változik. Az elektrokémiai potenciál felírható:

$$\mu^\alpha(\mathbf{r}) = \mu_c^\alpha(\mathbf{r}) + q^\alpha \Phi(\mathbf{r}) \quad (3.1)$$

alakban, ahol $\mu_c^\alpha(\mathbf{r})$ a kémiai potenciál, $\Phi(\mathbf{r})$ pedig az átlagos elektromos potenciál. A 3.1 egyenlet tehát azt írja le, hogy az elektrokémiai potenciál a kémiai és az elektromos munka összege, amely ahhoz szükséges, hogy egy iont vákuumból adott $\mathbf{r}$ pozícióba hozzuk. Kísérleti úton ezek sem választhatók ketté, ellenben $\Phi(\mathbf{r})$ meghatározható a szimuláció során. Ebből számolható $\mu_c^\alpha(\mathbf{r})$ az egyenletből, ha $\mu^\alpha(\mathbf{r})$ -t ismerjük.

A szimulációs cellát kis $\mathcal{D}_i$ elemi cellákra kell osztani, melyeknek térfogata V_i . Egy-egy ilyen elemi cellában az elektrokémiai potenciált jelöljük μ_i^α -el. Egy ion eltávolításának, valamint hozzáadásának valószínűsége $\min(1; p_{i,\chi}^\alpha(\mathbf{r}))$, ahol

$$p_{i,\chi}^\alpha(\mathbf{r}) = \frac{N_i^\alpha! V_i^\chi}{(N_i^\alpha + \chi)!} \exp\left(-\frac{\Delta U(\mathbf{r}) - \chi \mu_i^\alpha}{kT}\right). \quad (3.2)$$

Ebben az egyenletben N_i^α az α típusú ionok száma az i elemi cellában a hozzáadás/eltávolítása előtt, $\Delta U(\mathbf{r})$ a rendszer belső energiájának megváltozása, miközben a részecske az $\mathbf{r}$ pozícióba került/onnán távolítottuk el és $\chi = \pm 1$ ionelhelyezésre és eltávolításra. Egy iont egy $\mathbf{r}_i$ pozícióból $\mathbf{r}_j$ -be mozgatva, a megfelelő Boltzmann-faktor a következőképpen módosul:

$$p_{i \rightarrow j}^\alpha(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j) = \exp \left(-\frac{\Delta U(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j) - (\mu_j^\alpha - \mu_i^\alpha)}{kT} \right). \quad (3.3)$$

Mivel két különböző elektrokémiai potenciálú cella között mozgatunk, ezeknek különbségét figyelembe kell venni, ugyanis ezzel szemben munkát kell végezni.

ΔU nemcsak az ionok közti kölcsönhatásokat tartalmazza, magában foglalja a külső elektromos térrel való kölcsönhatást is ($q^\alpha \Phi^{\text{EXT}}(\mathbf{r})$). A külső potenciál a $\nabla^2 \Phi^{\text{EXT}}(\mathbf{r}) = 0$ Laplace-egyenlet megoldása, amit a rendszerre előírt elektrosztatikus peremfeltétel mellett oldunk meg. Ez úgy valósul meg, hogy a megoldási tartomány felszínén (Dirichlet-peremfeltétel) az egyik tömbfázisban Φ^L , a másikban Φ^R potenciált írunk elő. Így biztosítható a rendszerre kapcsolt feszültség, mely az ionok számára a koncentrációgradiensén kívül további hajtóerőként szerepel. A Laplace-egyenlet megoldásához ki kell számolni a rendszer határfelületén az indukált töltéseket. Ezek keltik a $\Phi^{\text{EXT}}(\mathbf{r})$ potenciált a felületen belül. Ezek az indukált töltések tulajdonképpen elektródtöltésnek tekinthetők, míg a rendszert határoló két félhenger elektródoknak. Számításukra az *Induced Charge Computation* [42, 43] módszert használtuk. Ez a módszer a Poisson-egyenletet egy integrálegyenletté alakítja, ahol az indukált töltés az ismeretlen változó, majd a dielektromos határfelület diszkretizálása után ezt egy numerikus módszerrel megoldom. Az indukált töltések számítása után a potenciálok az elemi cellák középpontjaiban a Coulomb-törvényből kiszámíthatók.

A megoldási tartomány és a tömbfázis határfelületén (félhengerek) írjuk elő a peremfeltételeket. A két oldal különböző. Az elektromos potenciált, Φ^L , Φ^R , és a koncentrációt, $c^{\alpha,L}$, $c^{\alpha,R}$, írjuk elő peremfeltételként. $\mu^{\alpha,L}$ és $\mu^{\alpha,R}$ kiszámolásához meghatározzuk a $\mu_c^{\alpha,L}$ és $\mu_c^{\alpha,R}$ kémiai potenciálokat, majd ezekhez hozzáadjuk a külső térrel való kölcsönhatásokat:

$$\mu^{\alpha,L} = \mu_c^{\alpha,L} + q^\alpha \Phi^L \quad (3.4)$$

$$\mu^{\alpha,R} = \mu_c^{\alpha,R} + q^\alpha \Phi^R. \quad (3.5)$$

A $\mu_c^{\alpha,L}$ és $\mu_c^{\alpha,R}$ kémiai potenciálokat az Adaptív GCMC módszerrel határozzuk meg, amelyet Malasics és *mtsai.* dolgoztak ki [44].

A koncentrácioprofil számítása kétféleképpen történhet meg: az egyik módszer a hétköznapi, az ionok átlagos számát meghatározzuk egy elemi cellában, és osztjuk a cella térfogatával. Ennél hatékonyabb, ha a Widom-féle teszt-részecske-módszert használjuk fel [45, 46], amit potenciáeloszlás-tételként (*Potential Distribution Theorem*) is ismernek [47, 48]. Eszerint a többlet kémiai potenciál kiszámítható az alábbi módon:

$$\exp\left(-\frac{\mu_i^{\alpha, \text{EX}}}{kT}\right) = \left\langle \exp\left(-\frac{\Delta U_i^\alpha}{kT}\right) \right\rangle. \quad (3.6)$$

Ebben az egyenletben ΔU_i^α egy véletlenszerűen sorsolt pozícióba helyezett α típusú teszt-részecske energiája, ahol a behelyezést az i -edik elemi cellában végeztük. A többlet kémiai potenciál a

$$\mu_i^{\alpha, \text{EX}} = \mu_i^\alpha - kT \ln c_i^\alpha \quad (3.7)$$

egyenletből adódik. Mivel μ_i^α adott, a koncentráció a fenti két egyenletből kifejezhető:

$$c_i^\alpha = \left\langle \exp\left(-\frac{\Delta U_i^\alpha}{kT}\right) \right\rangle \exp\left(\frac{\mu_i^\alpha}{kT}\right). \quad (3.8)$$

3.3. Az LEMC szimuláció csatolása az NP egyenlethez

Az LEMC szimulációból, a diszkretizált μ_i^α elektrokémiai potenciál értékeket és a hozzájuk LEMC-vel számolt diszkretizált c_i^α koncentrációértékeket a NP egyenletbe visszahelyettesítve számítjuk a fluxussűrűséget. Ez ki kell, hogy elégítse a kontinuitási egyenletet (anyagmegmaradás):

$$\nabla \cdot \mathbf{j}^\alpha(\mathbf{r}) = 0. \quad (3.9)$$

A kezdetben kiválasztott $\mu^\alpha(\mathbf{r})$ profil, és az ebből szimulált $c^\alpha(\mathbf{r})$ profil, majd az ezekből kalkulált áramsűrűség azonban nem feltétlenül teljesíti a kontinuitási egyenletet. Szükséges tehát egy iterációs módszert alkalmazni, aminek segítségével az elektrokémiai potenciált addig változtatjuk (ezáltal a koncentrációt és a fluxust), ameddig az nem teljesíti a kontinuitási egyenletet. Ezzel az iterációs eljárással csatoljuk az LEMC szimulációt az NP transzportegyenlethez (NP+LEMC módszer). Az így előálló eljárás önkonzisztens megoldást szolgáltat a problémára.

Az iterációs mechanizmus a kontinuitási egyenlet integrális alakján alapul, melynek

során a Gauss-Osztragszkiij tételt felhasználva felületi integrállá alakítjuk át:

$$0 = \int_{\mathcal{D}_i} \nabla \cdot \mathbf{j}^\alpha(\mathbf{r}) dV = \oint_{\mathcal{S}_i} \mathbf{j}^\alpha(\mathbf{r}) \cdot \mathbf{n}(\mathbf{r}) dA, \quad (3.10)$$

ahol a $\mathcal{D}_i$ térfogatot az $\mathcal{S}_i$ felület veszi körbe, $\mathbf{n}(\mathbf{r})$ a kifelé mutató normálvektor a felület $\mathbf{r}$ pontjában. Az $\mathcal{S}_i$ felületet felosztjuk olyan $\mathcal{S}_{ij}$ felületelemekre, amelyek mentén a $\mathcal{D}_i$ elemi cella és a $\mathcal{D}_j$ határosak. A feltevésünk, hogy a felületelemeken a koncentráció, az elektrokémiai potenciál gradiense, a diffúziós együttható és az áramsűrűség konstans. Jelöljük ezeket $\hat{c}_{ij}^\alpha$, $\nabla \hat{\mu}_{ij}^\alpha$, $\hat{D}_{ij}^\alpha$ és $\hat{\mathbf{j}}_{ij}^\alpha$ -val. Ahol a két térfogatelem érintkezik, a felület mentén a koncentrációt és az elektrokémiai potenciál gradiensét numerikusan, lineáris interpolációval számoljuk, az elemi cellák középpontjában vett értékeinek a felhasználásával. Ebben az esetben az integrált felírhatjuk egy felületelemenkénti összegzéssel:

$$0 = \sum_{j, \mathcal{S}_{ij} \in \mathcal{S}_i} \hat{\mathbf{j}}_{ij}^\alpha \cdot \mathbf{n}_{ij} A_{ij}, \quad (3.11)$$

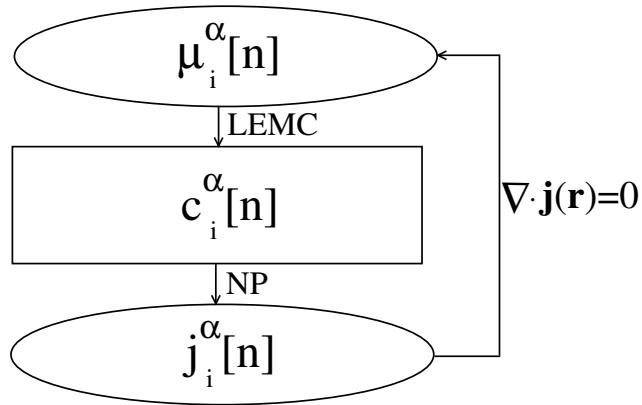
ahol A_{ij} az $\mathcal{S}_{ij}$ felülete.

Az algoritmus felépítése

1. Az elektrokémiai potenciálra egy alkalmas kezdeti találgatást alkalmazunk a megoldási tartomány belsejében, azaz az elemi cellák középpontjaiban egy alkalmas interpolációval [13]. Ezt jelöljük $\mu_i^\alpha[1]$ -el. A megoldási tartomány felületén érvényesek a peremfeltételek, míg a határfelületen belül az elektrokémiai potenciál folytonosan és szigorúan monoton módon változik.
2. LEMC szimulációt hajtunk végre, melynek a bemenete az elektrokémiai potenciál, kimenete a koncentráció minden térfogatelemre. Ez utóbbit $c_i^\alpha[1]$ -el jelöljük. Ezután kiszámoljuk a koncentrációkat a $\mathcal{S}_{ij}$ felületelemeken lineáris interpolációval: $\hat{c}_{ij}^\alpha[1]$. A 2. iterációra keresett elektrokémiai potenciált, $\mu_i^\alpha[2]$ -vel jelöljük. Ezekből számítható az elektrokémiai potenciál gradiense a $\mathcal{S}_{ij}$ felületelemeken numerikusan: $\nabla \hat{\mu}_{ij}^\alpha[2]$. Feltesszük, hogy ezt az új elektrokémiai potenciált használva teljesül-e a kontinuitási egyenlet. Általánosan, az $[n] \rightarrow [n+1]$ iterációra:

$$0 = \sum_{j, \mathcal{S}_{ij} \in \mathcal{S}_i} \hat{D}_{ij}^\alpha \hat{c}_{ij}^\alpha[n] \nabla \hat{\mu}_{ij}^\alpha[n+1] \cdot \mathbf{n}_{ij} A_{ij}. \quad (3.12)$$

Ez egy N lineáris egyenletből álló egyenletrendszerként, ahol $\mu_i^\alpha[n+1]$ az N ismeretlen



3.1. ábra. A 3.3 fejezetben leírt iterációs módszer folyamatábrája. Az n -edik iterációban számolt kémiai potenciálból az LEMC szimuláció segítségével számolunk egy koncentrációt, majd ezt a két mennyiséget visszahelyettesítjük az NP-transzportegyenletbe és kiszámítjuk a fluxust. A $n+1$ -edik iterációban használandó kémiai potenciált úgy kapjuk, hogy a $c^\alpha[n]$ -re és $\mu^\alpha[n+1]$ használatával számolt fluxusra teljesüljön a kontinuitási egyenlet. Ezzel az új kémiai potenciállal előről kezdjük az iterációt.

($i = 1, \dots, N$). A megoldása numerikus úton történik [49].

3. Az LEMC szimuláció következő iterációjának bemeneteként használjuk a $\mu_i^\alpha[n+1]$ értékeket. Ezek a szimulációk szolgáltatják a $c_i^\alpha[n+1]$ koncentrációkat a következő iterációra, majd ezekből a 3.12 egyenlet felhasználásával újabb elektrokémiai potenciál nyerhető. Ezt az iterációs mechanizmust addig folytatjuk, ameddig az eredmény nem konvergál.

Az iterációs algoritmust röviden a 3.1 ábra írja le. A konvergencia nem lesz tökéletes, mivel a szimulációk az eredményt valamilyen statisztikai hibán belül adják meg. Ezek adott érték körül fluktuálnak. A statisztikai hiba mértéke csökkenthető a szimuláció hosszának növelésével.

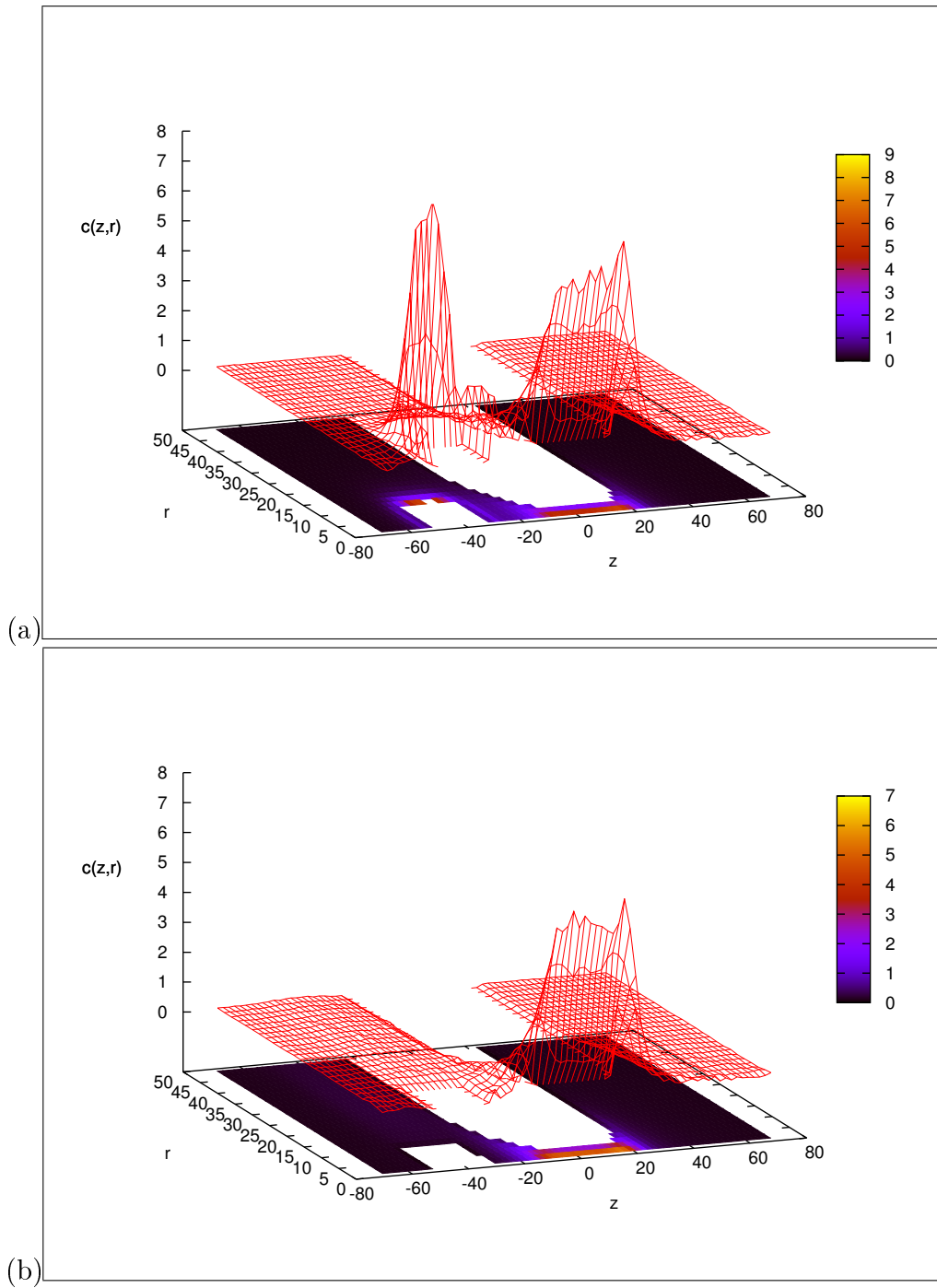
4. fejezet

Eredmények

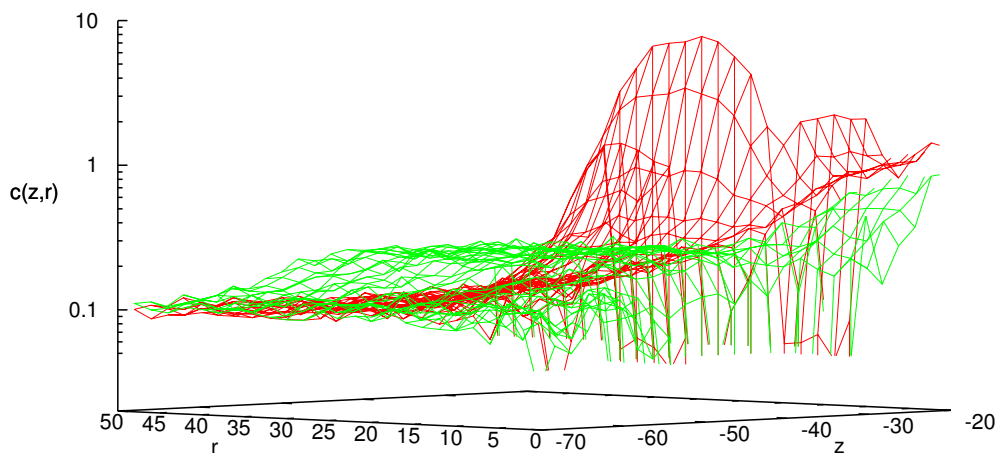
A szimulációt Linux operációs rendszer alatt futtattam, amely Fortran90 kódban íródott, melyet a mai napig használnak matematikai és mérnöki problémák vizsgálatára. A szimulációs idő attól függ, hogy hány iterációt hajtunk végre, milyen hosszú LEMC szimulációt futtatunk egy iterációban, és hogy mekkora a rendszer mérete. A dolgozatban bemutatott számítások esetében 30 iterációban $1.2 \cdot 10^7$ konfigurációt mintavételeztem az LEMC szimulációban. Az ábrák $Q = -30e$ -os töltésre vonatkoznak, kivéve ha azt az ábrán feltüntettem. Átlagosan 4-5 órán át számolt a program. Kétféle esetet különböztettem meg a szimulációk folyamán. Az egyik esetben a töltések a Casq reprezentációjaként jelen lévő hengeren vannak, a másik esetben a hengert tartalmazó $-50 \text{ \AA} \leq z \leq -30 \text{ \AA}$ intervallumba beszorított mozgékony ionokként helyeztem el. Ezek az ionok tulajdonképpen tértöltést hoznak létre.

A modellt tesztfuttatásokkal vizsgáltam. A legegyszerűbb esettel kezdtem: NaCl mindkét oldalon, ugyanazon koncentráción (0.1 M). A Na^+ és Cl^- ionok átmérője $1.9 \text{ \AA}$ illetve $3.62 \text{ \AA}$. A transzport hajtóereje a 100 mV feszültség. A diffúziós állandóra a korábbi szimulációkból számolt értékeket [10] használok. A tömbfázis-beli diffúziós állandó $1.334 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ Na^+ -ra. A szelektív szűrőben az érték $1.27 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$. A Casq körül a tömbfázisú értékeket használok.

A 4.1 ábra a Na^+ koncentrációt ábrázolja z és r függvényében a (z, r) tér felett lineáris skálán. Látható mindkét esetben, hogy a csatornában megnő a Na^+ koncentráció. A henger körül csak a felületi töltés alkalmazásakor jelenik meg nagy csúcs (4.1a ábra). Ez a csúcs tartalmazza a többlet Na^+ -ot. Tértöltés esetén ilyen csúcs nincs - a felületes szemléltető így azt gondolhatja, tértöltések alkalmazásakor nem növekszik meg a koncentráció a hengert tartalmazó $-50 \text{ \AA} \leq z \leq -30 \text{ \AA}$ intervallumban. Ez azonban nem így van.



4.1. ábra. A Na^+ koncentráció felület a z, r koordináták felett mol/dm^3 egységben. (a) $Q = -30e$ felületi töltés van a hengeren. (b) Ugyanennyi töltés van hengert tartalmazó $-50 \text{ \AA} \leq z \leq -30 \text{ \AA}$ szakaszba zárt mozgékony ionokon (tértöltés eset).

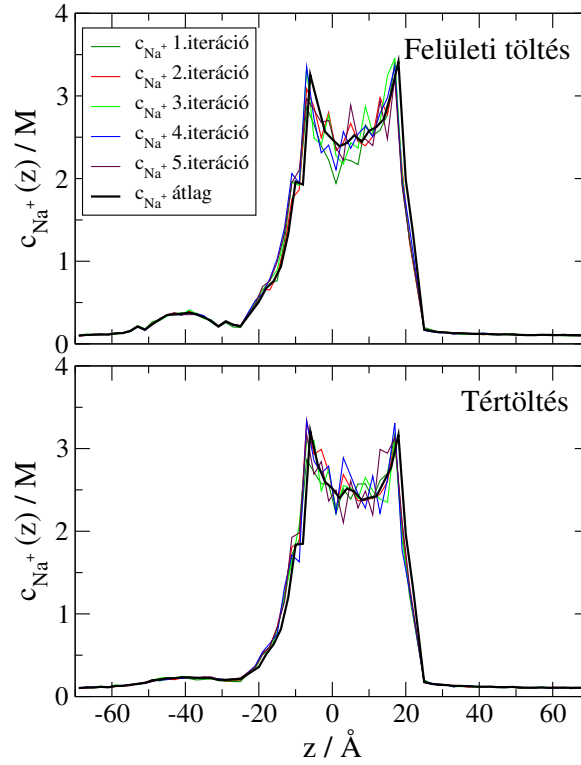


4.2. ábra. $c(z, r)$ profil, $Q = -30e$ -os töltés alkalmazása esetén felületi (piros) és tértöltésekre (zöld) logaritmikus skálán.

Lineáris skálán dominál a nagy koncentrációjú tartomány, így nem láthatóak a kis koncentrációjú értékek, ezért a 4.2 ábrán ábrázolom a Na^+ -koncentrációt logaritmikus skálán. Az ábrán ráközelítettem a rendszernek a hengert magában foglaló z tartományára. Látható a különbség az eltérő töltéstípusok között, felületi töltések alkalmazásakor a kettősréteg miatt megnő a koncentráció a henger felületén (piros vonalak), tértöltés jelenlétekor pedig a koncentrációprofil egyenletesebb (zöld vonalak), de határozottan nagyobb, mint 0.1 M. A többlet Na^+ tehát ekkor is jelen van.

A három dimenziós ábra szemléletes, ellenben nehéz belőle messzemenő következtetéseket levonni. Jobban látjuk a rendszer viselkedését, ha egy változó függvényében ábrázolunk, míg a másik koordinátára integrálunk.

A 4.3 ábrán a z -függő koncentrációprofilok láthatók, felületi- és tértöltést alkalmazva, $Q = -30e$ töltés mellett. Az ábra mutatja a különböző iterációkban kapott profilokat és az átlagos profilt is vastag vonallal szedve. Látható, hogy a különböző iterációkban kapott profilok különböznek (statisztikus hibával terhelve), de az átlagérték körül fluktuálnak. Két lehetőség van a számolás végrehajtására: ha sok iterációt alkalmazunk, rövid szimulációkkal; vagy hosszú szimulációkat indítunk el alacsony iterációs szám mellett. Ez utóbbi „finomabb”, kevésbé ugráló eredményt ad. Azt találtam, hogy számomra az első módszer

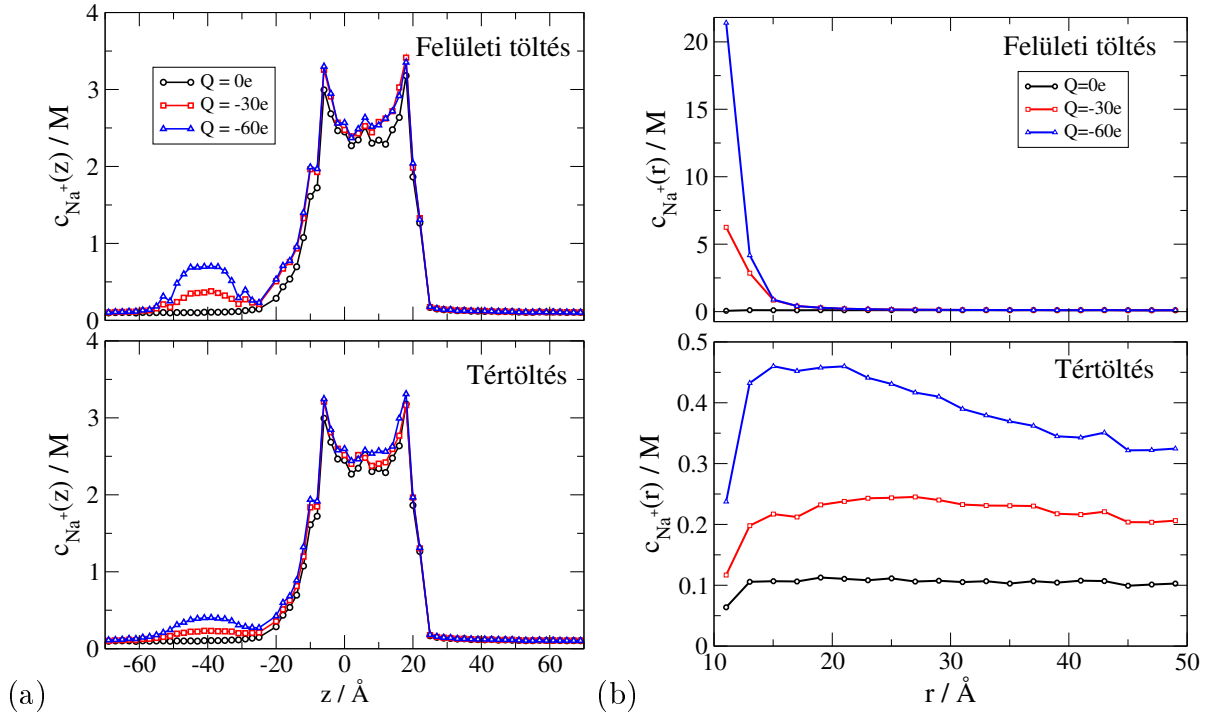


4.3. ábra. A z -függő koncentrációprofilok $Q = -30e$ töltéssel a rendszerben iterációként és az átlaguk vastag vonallal szedve. Felső panel: felületi töltés; alsó panel: tértöltés.

alkalmasabb, mivel a nagyobb iterációs számmal a kémiai potenciál profil lehetséges értékeit megfelelően mintavételezzük. Dolgozatomban tehát egyfajta dupla mintavételezést alkalmazok: a szimuláció a fázisteret mintavételezi, az iteráció pedig az elektrokémiai potenciál lehetséges értékeit mintavételezi.

A rendszer két határán a Na^+ koncentráció 0.1 M-hoz tart, ami a peremfeltétel következménye. A csatornában nagy a koncentráció, ez a kationszelektivitásnak tudható be. A csatorna belső (szűrő) részében kisebb a koncentráció az előszobához viszonyítottakhoz képest, mivel ott zsúfolt a csatorna, kevesebb ion enged be magába. A $-50 \text{ Å} \leq z \leq -30 \text{ Å}$ tartományban található a henger, ha felületi töltéseket alkalmazunk, az nagyobb helyi koncentrációt eredményez a henger körül.

A 4.4a ábra a koncentrációprofilok átlagértékét mutatja különböző Q -k alkalmazása esetén. A töltés növekedésével az ionkoncentráció által reprezentált ionmennyiség növekszik a henger környezetében. Ha csak z -függést mutatunk, az r dimenzióban átlagolást végzünk. Ezzel az átlagolással az az információ vesz el, mely számunkra hasznos: hogyan

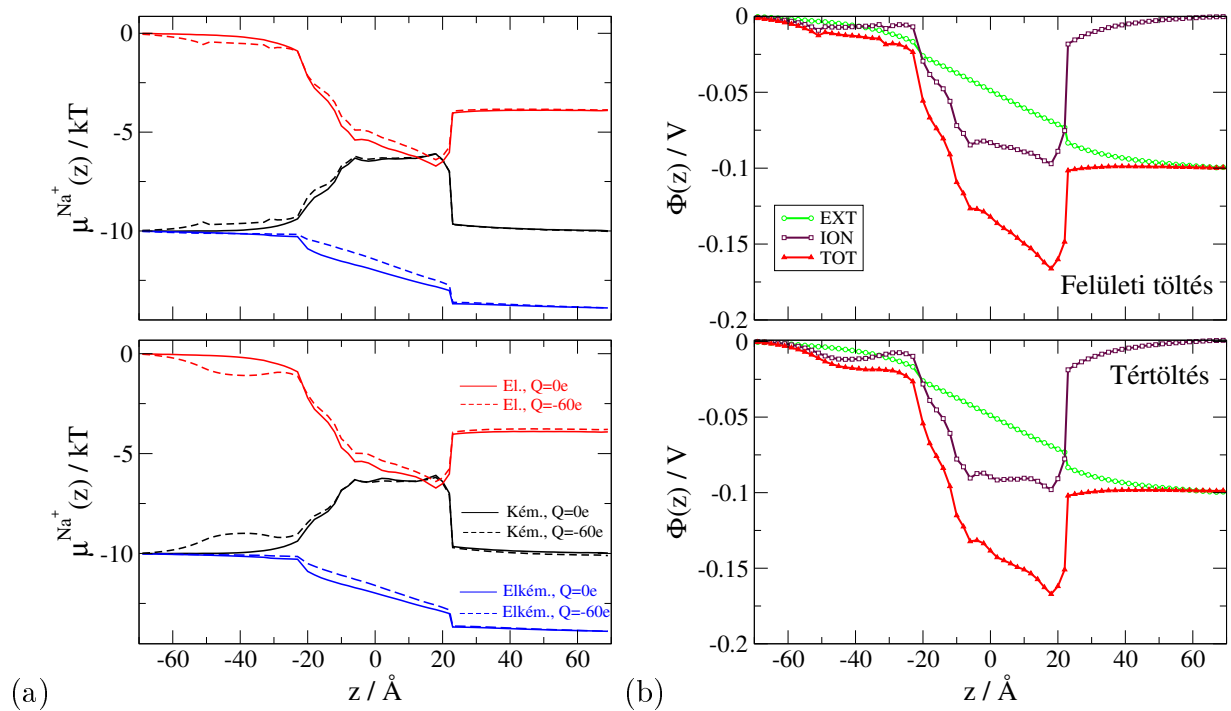


4.4. ábra. A koncentrácioprofilok töltésfüggése. (a) z -függő, illetve (b) r -függő profilok $Q = -30e$ -ra. Felső panelek: felületi töltés; alsó panelek: tértöltés.

helyezkednek el a henger körül a kationok. Ennek a bemutatására szolgál a 4.4b ábra. Itt a z koordinátára átlagolunk, mégpedig arra a z intervallumra, ahol a henger elhelyezkedik ($-50 \text{\AA} \leq z \leq -30 \text{\AA}$).

Felületi töltés alkalmazása esetén a $c_{Na^+}(\mathbf{r})$ profilnak a henger mellett csúcsértéke van, és a csúcs egyre nagyobb ahogy növeljük a felületen elhelyezkedő töltések számát. A töltött felület mentén a Na^+ ionok egy elektromos kettősréteget képeznek, míg tértöltés alkalmazása esetén a henger mellett ún. kiüresedési zóna van. Ekkor a henger töltetlen, és mivel az ion-ion kölcsönhatás erősebb mint a henger-ion kölcsönhatás, nem kedvező energetikailag a fal mellett lenni az ionoknak. A nátriumionok inkább a strukturális tértöltéseket „hordozó” mozgékony ionok körül csoportosulnak. A rendszer határához közeledve a koncentráció kisebb töltések esetén beáll 0.1 M-ra (a peremfeltétel ezt szabja meg a szimulációs rendszerben). Tértöltés alkalmazásánál ha elég nagy az alkalmazott töltés nagysága, nem tud erre az értékre csökkenni (túl kicsi a rendszer mérete illetve a tértöltést hordozó ionok pufferező hatása miatt), de a csökkenő effektust mutatja. A Na^+ -ionok jelentős része a henger és a rendszer fala között közel egyenletes eloszlással vannak jelen.

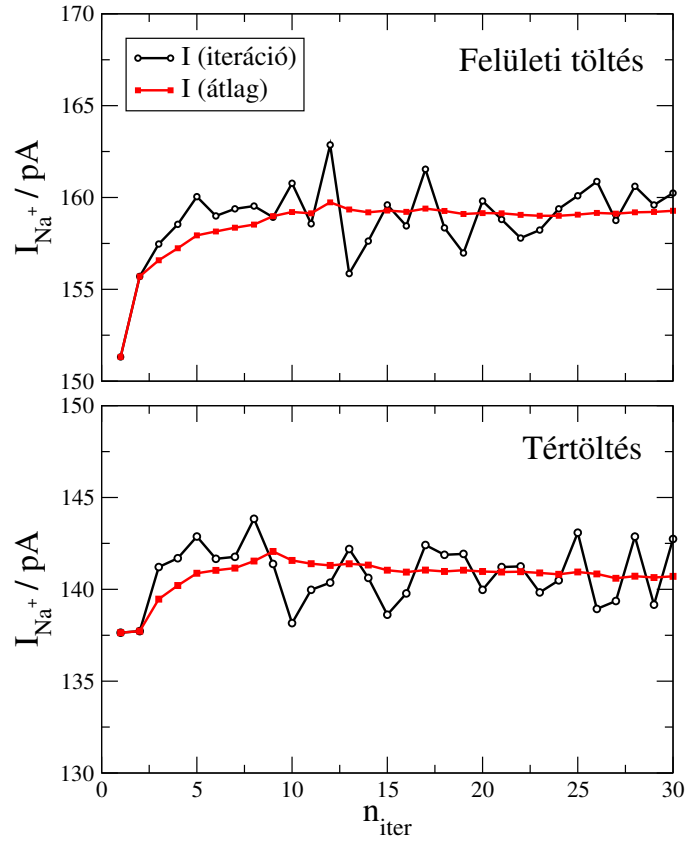
Az elektrokémiai potenciálok esetében (4.5a ábra), nincs számottevő különbség a két



4.5. ábra. (a) Az elektrokémiai potenciál illetve két komponensének (kémiai potenciál és az elektromos potenciál) z -függése. (b) A teljes elektromos potenciál (TOT) illetve két komponensének (elektrodtöltések által (EXT) és ionok által (ION) keltett potenciál) z -függése, $Q = -30e$ -ra. Felső panel: felületi töltés; alsó panel: tértöltés.

típusú töltéshelyezkedés között. Mivel a koncentráció a rendszer két oldalán ugyanaz (0.1 M), a kémiai potenciál (fekete vonalak) szintén ugyanaz lesz. A csatornában található egy szélesebb csúcs, mivel ott a csatorna kationszelektivitásából adódóan a koncentráció megnövekszik, következésképpen a kémiai potenciál értéke is nagyobb lesz. A transzport hajtóerejét az elektromos rész adja, az ion a csatornán az alkalmazott feszültség hatására megy át. Az elektrokémiai potenciál elektromos részének ($z^{\alpha}e\Phi$) azonban van egy minimuma, mivel a csatorna negatívan töltött (negyven darab $-0.5e$ töltés). Az elektrokémiai potenciál (a kémiai és az elektromos részek összege) szigorúan monoton csökken az egyik irányba, így arra haladnak a Na^+ ionok. Felületi és tértöltések esetén nincs különösebb eltérés, ezért ha az áramban különbséget észlelünk, az pusztán a koncentrációkülönbségből adódik. Ezt az NP egyenlet segítségével számolhatjuk is, a fluxus annál nagyobb, minél nagyobb koncentráció van jelen. Számít azonban, hogy ez a többlet Na^+ hol helyezkedik el.

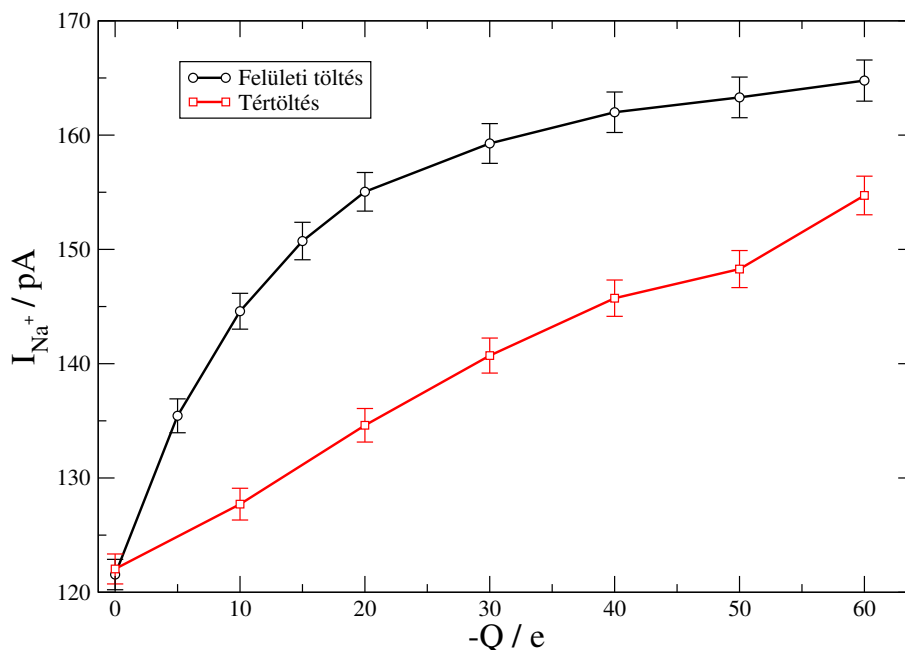
A kémiai potenciálból eredő csúcs a hengernél, mely az ionok felhalmozódásából ered,



4.6. ábra. Az elektromos áram nagysága az iterációs szám függvényében illetve ennek futóátlaga. Az átlagolást úgy végezzük, hogy az első húsz százalékot eldobjuk, az utolsó nyolcvan százalékot pedig átlagoljuk. Felső panel: felületi töltés; alsó panel: tértöltés.

kiegyenlíti az elektromos potenciálból eredő völgyet az elektrokémiai potenciál tehát nem tartalmaz sem minimumot, sem maximumot, a valóságban ez a függvény szigorúan monoton nő vagy csökken. Ennek a függvénynek a gradiense adja a transzport hajtóerejét. „Visszafele” tehát nem mutathat, mert az ionok egy irányba haladnak.

A 4.5b ábrán ábrázolom az elektromos potenciált és összetevőit. A teljes elektromos potenciált kétféle töltés kelti: elektród és iontöltések. A rendszerben elektródtöltések vannak jelen - szimuláció elején ezeket számoljuk a Laplace-egyenlettel (peremfeltételek: $\Phi^L = 0\text{mV}$, $\Phi^R = -100\text{mV}$), és ennek megoldása adja a külső potenciált (Φ^{EXT}). Az ionok potenciálja pedig a koncentrációprofilból ered, ugyanis utóbbi egy töltésprofil ad, melyből az ionpotenciál (Φ^{ION}) meghatározható. Ennek számolása a szimulációban „on the fly”-módon történik - folyamatosan mintavételezzük az ionpotenciált tesztöltések alkalmazásával. A rendszer két végében Φ^{ION} értéke ugyanakkora (zérus). Középen a csatorna

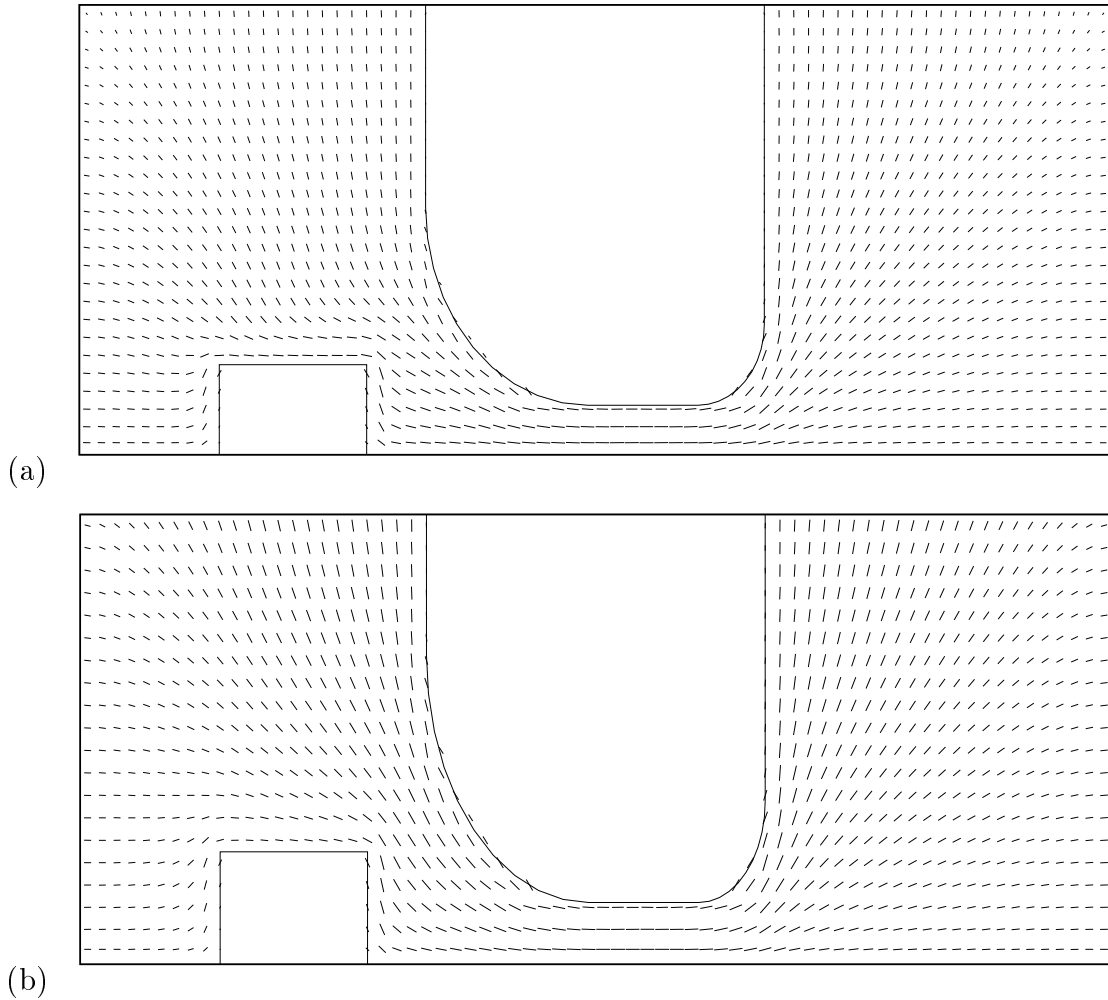


4.7. ábra. A Na^+ -áram az alkalmazott töltés függvényében a kétféle töltés-típusra.

töltésszétválást okoz. A csatorna átlagos töltéssűrűsége nem nulla, mivel az negatívan töltött, és nincs annyi hely a kationok számára merevgömbi kizárás miatt, hogy az megfelelően semlegesítődni tudjon. Tehát a csatorna átlagos töltése negatív, ezt pedig nem a csatornában, hanem kettősrétegek segítségével, a membrán mentén semlegesíti egy Na^+ -okból álló pozitív burokkal (membrán menti többlet Na^+ -réteg). A csatorna negatív töltése megjelenik a potenciálprofilban, mint potenciálvölgy. Az alkalmazott (EXT) és az ionpotenciál (ION) összege eredményezi a teljes (TOT) elektromos potenciált (lásd 4.5b ábra).

Ha a koncentráció és az elektrokémiai potenciál rendelkezésre áll, a NP egyenlet felhasználásával számolhatjuk a számunkra fontos mennyiséget, az áramot. A 4.6 ábra azt szemlélteti, hogy az áram az iterációs szám függvényében fluktuál, de a fluktuáló értékeknek a futóátlaga konvergál egy jól meghatározott értékhez.

A Casq-hálózat kétféle szerepet tölt be a sejten belül - egyrészt kationpufferként szolgál, másrészt a DERD effektus segítségével ezt a diffúziót meggyorsítja, gyakorlatilag bevezeti a csatorna „szájába” az ionokat. A tér- és felületi töltések alkalmazásával e kettő effektust akartuk kettéválasztani. A rendszer bal oldalán, ahol a henger is jelen van, a nátriumkoncentrációt megnöveljük a felületen vagy a térben elhelyezett töltésekkel. Ezáltal ott a puffert Na^+ koncentráció nagyobb lesz. Fontos hangsúlyozni, hogy tértöltések ilyen módon nem hozhatók létre, mert ionokat olyan módon, ahogy ezt a szimulációs modellben



4.8. ábra. Áramsűrűség-vektorok a teljes rendszerre. Felső panel: felületi töltés; alsó panel: tértöltés.

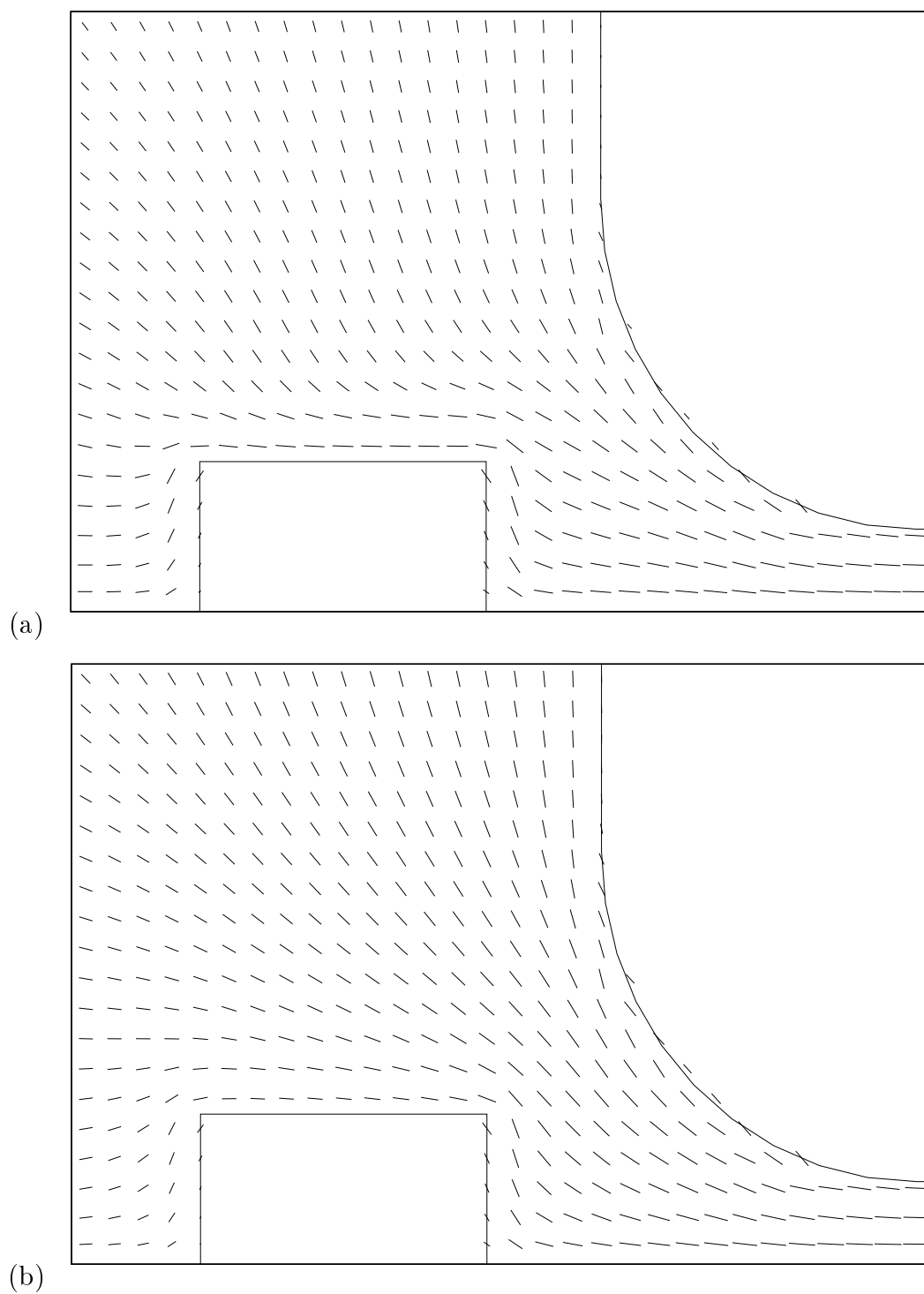
tettük, nem tudjuk egy térrészbe beszorítani. A szimulációban könnyen alkalmazhatunk „mesterséges” falakat, a sejtben ez nem lehetséges. A valóságban ezek a pufferek töltések fehérjéken helyezkednek el, tehát kötöttek. A tértöltés alkalmazása csak modell és spekuláció, az effektusok szétválasztásának érdekében alkalmazott mesterséges modell.

A 4.7 ábra mutatja a dolgozat legfontosabb eredményét: felületi töltések alkalmazása esetén nagyobb az áram, tehát van hatása ha egy felület mentén transzportálódnak az ionok a csatornába. A felület mentén azonban nem helyezhető el korlátlan mennyiségű töltés, ilyen módon a töltött henger áramnövelő hatásának korlátai vannak, az $I(Q)$ görbe tehát telítődést mutat. Tértöltés elhelyezésének ilyen akadálya nincsen, ezáltal a vizsgált

Q tartományban lineárisan nő a Na^+ -áram a tértöltés-esetben. A 4.7 ábra kvantitatíve mutatja a DERD jelenségét, annak okáról azonban nem szolgál információval.

Bepillantást nyerhetünk a DERD okaiba, ha ábrázoljuk a Na^+ áramlási képét (ld. 4.8 ábra). Minden térfogatelem közepébe behelyezünk egy kis szakaszt, ami azon a helyen az áramsűrűség-vektort reprezentálja. Iránya a vektor iránya, hossza a vektor nagyságának logaritmusával arányos, mivel lineáris skálán a kis áramsűrűség-vektorok nem látszódnának. Az ábra jól szemlélteti a Na^+ áramlásának irányát.

Sok Na^+ jön be a csatornába a membrán mentén, a hengert pedig a Na^+ -ionok „körül-folyják”. A két eset közti különbséget jobban láthatjuk, ha ráközelítünk a henger körüli térrészre (4.9 ábra). A felületi töltés esetén a Na^+ -áram a henger felé térül el, és ezáltal több Na^+ -ion halad a henger palástja mentén. Ez tulajdonképpen a DERD jelenségével azonosítható. Bár az 4.9 ábráról nem nyilvánvaló, de a 4.7 ábra jól mutatja, hogy felületi töltések alkalmazásakor nagyobb az áram, mint a tértöltés esetén, tehát valóban diffúzió-gyorsításról van szó.



4.9. ábra. Áramsűrűség-vektorok a hengerhez közel. Felső panel: felületi töltés; alsó panel: tértöltés.

5. fejezet

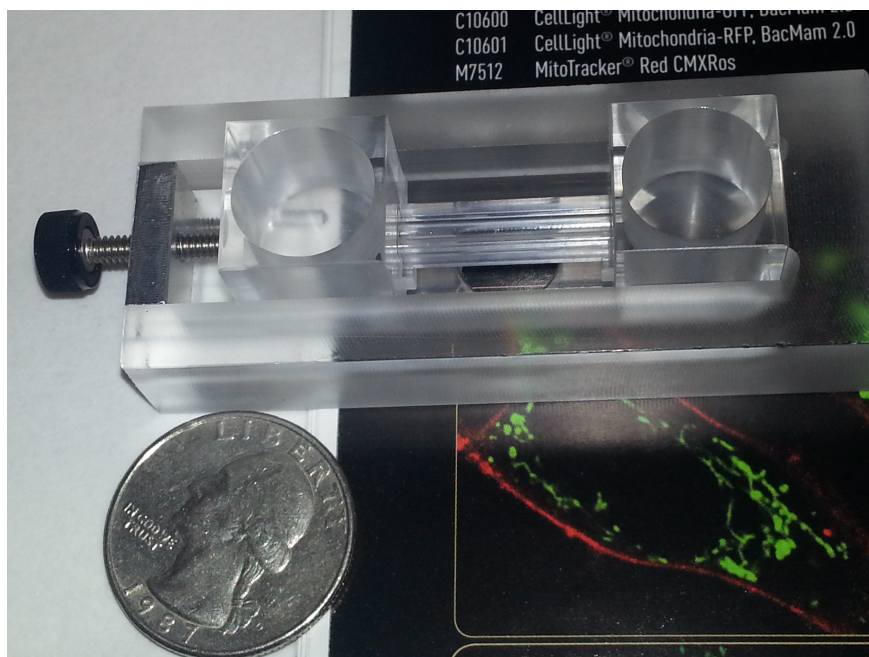
Összefoglalás

A dolgozat témája egy nemrég indult nemzetközi együttműködés keretein belül alakult ki, ahol az izomsejtekben végbemenő Ca^{2+} -transzport vizsgálata a cél. Dr. Eduardo Rios a chicagói Rush University Medical Center Molekuláris Biofizika és Élettan Tanszékén régóta foglalkozik az izomösszehúzódást generáló Ca^{2+} -kiáramlásokkal a RyR Ca-csatornákon keresztül. A Casq hálózat hatása a Ca^{2+} fluxusra jelenleg az egyik fő kutatási témája. Ennek a hálózatnak a modell-alapú vizsgálata sok molekuláris szintű információval járulhat hozzá a rendszer viselkedésének megértéséhez. Az ebben a dolgozatban leírt eredmények jelentik az első próbálkozást ebben a szimulációs témában.

Az első modellező lépéseket megtettük, a meglévő RyR modellt összekapcsoltuk egy töltött hengerrel, mely a Casq egyszerű modelljeként van jelen. Sikerült bizonyítanom a dimenziószám csökkenésével járó diffúziógyorsulást olyan módon, hogy a katinokat puffelölő töltést kétféleképpen helyeztem el az ioncsatorna bal oldalán: az egyik esetben a henger felületén felületi töltés formájában, a másik esetben mozgékony ionokon történő töltés formájában. Az első esetben nagyobb áramot kaptam, ami azt jelzi, hogy a henger felülete mentén mozgó Na^+ ionok erősebb diffúziót tesznek lehetővé.

Erre a célra ez az egyszerű modell és az NP+LEMC módszer alkalmasnak bizonyult. A vizsgálataink előzetes jellegűek, mind a Casq modell (egy henger a csatorna forgástengelye mentén), mind az elektrolit (szimmetrikus 0.1 M NaCl) csak az első lépéseket jelentik. A DERD jelenségét azonban még erre az egyszerű rendszerre is sikerült kimutatni. Várakozásaink szerint a modell komplexebbé tétele a fő eredményen nem fog változtatni.

A továbbiakban szeretnénk a Casq-hálózatot nem egyetlen, a csatorna előtt levő hengerrel modellezni, hanem a csatorna szájá körül több hengert elhelyezni koncentrikusan. Ezzel egy lépéssel közelebb kerülnénk a valós geometriához. Szeretnénk továbbá az elekt-



5.1. ábra. Kísérleti cella a DERD vizsgálatára (az ábrát Dr. Eduardo Rios szolgáltatta).

rolit összetételét illetően a biológiai esetet modellezni: ebben az esetben 0.1 M K^+ és 0.001 M Mg^{2+} van jelen szimmetrikusan. A diffundáló ion a Ca^{2+} , ami az SR-en kívül 10^{-6} M , azon belül 0.001 M koncentrációban van jelen.¹ Az SR membránján keresztül nincs potenciálkülönbség, a transzport hajtóereje kizárólag a Ca^{2+} koncentrációgradiens.

Számításaink jelenleg modellszámítás jellegűek, egy adott jelenség kvalitatív reprodukálására és megértésére törekedtünk. Kísérleti eredmények jelenleg nem állnak rendelkezésre, de ez reményeink szerint változni fog. Dr. Eduardo Rios tervezett egy cellát (ld. 5.1 ábra), aminek segítségével a Casq-hálózatnak a Ca^{2+} -áramra gyakorolt hatását szeretnék vizsgálni ellenőrzött körülmények között.

Az eredményeket az American Biophysical Society éves konferenciáján, az amerikai kutatócsoporttal kiegészülve, egy poszteren szándékozunk bemutatni.

¹A dolgozat elkészülte előtt nem sokkal vettük észre, hogy a Casq-hengert a rossz oldalra helyeztük. A 2.1 ábrán a bal oldal az izomsejt citoplazmája, míg a jobb oldal az SR. A Casq-ot modellező hengert tehát a jobb oldalra kellett volna helyezni. Jelen esetben, mivel modellszámításokról van szó, ez nem okoz hibát: következtetéseinkre ez nincs hatással. A jövőben viszont ezt a hibát korrigálni fogjuk.

Köszönetnyilvánítás

Munkám nem jöhetett volna létre témavezetőm, Boda Dezső segítségével, aki mindig a rendelkezésemre állt. Köszönöm Valiskó Mónikának, aki ellátott jótanácsaival, valamint Dirk Gillespie-nek és Eduardo Ríos-nak, akik az előrehaladásomat segítették.

Irodalomjegyzék

- [1] B. Hille. *Ion channels of excitable membranes*. Sinauer Associates, Sunderland, 3rd edition, 2001.
- [2] W. A. Sather and E. W. McCleskey. Permeation and selectivity in calcium channels. *Ann. Rev. Physiology*, 65:133–159, 2003.
- [3] L. Royer and E. Ríos. Deconstructing calsequestrin. Complex buffering in the calcium store of skeletal muscle. *J. Physiol.*, 587(13):3101–3111, 2009.
- [4] Emiliano J. Sanchez, Kevin M. Lewis, Benjamin R. Danna, and Chul-Hee Kang. High-capacity Ca^{2+} binding of human skeletal Calsequestrin. *Biophys. J.*, 287(14):11592–11601, 2012.
- [5] H. Park, S. Wu, A. K. Dunker, and C. Kang. Polymerization of Calsequestrin: Implications for Ca^{2+} regulation. *J. Biol. Chem.*, 278(18):16176–16182, 2003.
- [6] H. Park, I. Park, E. Kim, B. Youn, K. Fields, A. Dunker, and C. Kang. Comparing skeletal and cardiac calsequestrin structures and their calcium binding. *J. Biol. Chem.*, 279(17):18026–18033, 2004.
- [7] A. Kumar, H. Chakravarty, N. C. Bal, T. Balaraju, N. Jena, G. Misra, C. Bal, E. Pieroni, and A. Sharon. Identification of calcium binding sites on calsequestrin 1 and their implications for polymerization. *Mol. Biosyst.*, 9(7):1949–1957, 2013.
- [8] K. Sharp, R. Fine, and B. Honig. Computer simulations of the diffusion of a substrate to an active site of an enzyme. *Science*, 236(4807):1460–1463, 1987.
- [9] G. Adam and M. Delbrück. *Reduction of dimensionality in biological diffusion processes*. W.H. Freeman and Company, 1968.

- [10] D. Boda. Monte Carlo simulation of electrolyte solutions in biology: in and out of equilibrium. In D. Gillespie and N. Baker, editors, *Ann. Rep. Comp. Chem.*, volume 10 of *Ann. Rep. Comp. Chem.*, page in press. Elsevier, 2014.
- [11] D. Boda, R. Kovács, D. Gillespie, and T. Kristóf. Selective transport through a model calcium channel studied by Local Equilibrium Monte Carlo simulations coupled to the Nernst-Planck equation. *J. Mol. Liq.*, 189:100, 2014.
- [12] D. Boda, D. Henderson, and D. Gillespie. The role of solvation in the binding selectivity of the L-type calcium channel. *J. Chem. Phys.*, 139(5):055103, 2013.
- [13] D. Boda and D. Gillespie. Steady state electrodiffusion from the Nernst-Planck equation coupled to Local Equilibrium Monte Carlo simulations. *J. Chem. Theor. Comput.*, 8(3):824–829, 2012.
- [14] D. Boda, W. Nonner, D. Henderson, B. Eisenberg, and D. D. Gillespie. Volume exclusion in calcium selective channels. *Biophys. J.*, 94(9):3486–3496, 2008.
- [15] D. Boda, M. Valiskó, B. Eisenberg, W. Nonner, D. Henderson, and D. Gillespie. Combined effect of pore radius and protein dielectric coefficient on the selectivity of a calcium channel. *Phys. Rev. Lett.*, 98(16):168102, 2007.
- [16] D. Gillespie and D. Boda. The anomalous mole fraction effect in calcium channels: A measure of preferential selectivity. *Biophys. J.*, 95(6):2658–2672, 2008.
- [17] D. Gillespie. Energetics of divalent selectivity in a calcium channel: The Ryanodine Receptor case study. *Biophys. J.*, 94(4):1169–1184, 2008.
- [18] D. Gillespie, J. Giri, and M. Fill. Reinterpreting the anomalous mole fraction effect: The Ryanodine receptor case study. *Biophys. J.*, 97(8):2212–2221, 2009.
- [19] W. Nonner, L. Catacuzzeno, and B. Eisenberg. Binding and selectivity in L-type calcium channels: A mean spherical approximation. *Biophys. J.*, 79(4):1976–1992, 2000.
- [20] L. Xu, Y. Wang, D. Gillespie, and G. Meissner. Two Rings of Negative Charges in the Cytosolic Vestibule of Type-1 Ryanodine Receptor Modulate Ion Fluxes. 90(2):443–453, 2006.

- [21] Y. Wang, L. Xu, D. A. Pasek, D. Gillespie, and G. Meissner. Probing the Role of Negatively Charged Amino Acid Residues in Ion Permeation of Skeletal Muscle Ryanodine Receptor. 89(1):256–265, 2005.
- [22] L. Gao, D. Balshaw, L. Xu, A. Tripathy, C. Xin, and G. Meissner. Evidence for a Role of the Luminal M3-M4 Loop in Skeletal Muscle Ca^{2+} Release Channel (Ryanodine Receptor) Activity and Conductance. 79(2):828–840, 2000.
- [23] S. Kuyucak, M. Hoyles, and S. H. Chung. Analytical solutions of Poisson’s equation for realistic geometrical shapes of membrane ion channels. *Biophys. J.*, 74(1):22–36, 1998.
- [24] S. H. Chung, T. W. Allen, M. Hoyles, and S. Kuyucak. Permeation Of Ions Across The Potassium Channel: Brownian Dynamics Studies. *Biophys. J.*, 77(5):2517–2533, 1999.
- [25] B. Corry, S. Kuyucak, and S. H. Chung. Tests of continuum theories as models of ion channels. II. Poisson-Nernst-Planck theory versus Brownian dynamics. *Biophys. J.*, 78(5):2364–2381, 2000.
- [26] B. Corry, T. Vora, and S.-H. Chung. Electrostatic Basis Of Valence Selectivity In Cationic Channels. *Biochem. Biophys. Acta*, 1711:72–86, 2005.
- [27] M. R. Powell, L. Cleary, M. Davenport, K. J. Shea, and Z. S. Siwy. Electric-field induced wetting and dewetting in single hydrophobic nanopores. *Nature Nanotechnology*, 6(12):798–802, 2007.
- [28] Z. S. Siwy, M. R. Powell, A. Petrov, E. Kalman, C. Trautmann, and R. S. Eisenberg. Calcium-induced voltage gating in single conical nanopores. *Nano Lett.*, 6(8):1729–1734, 2006.
- [29] Z. S. Siwy, M. R. Powell, E. Kalman, R. D. Astumian, and R. S. Eisenberg. Negative incremental resistance induced by calcium in asymmetric nanopores. *Nano Lett.*, 6(3):473–477, 2006.
- [30] D. Constantin and Z. S. Siwy. Poisson-Nernst-Planck model of ion current rectification through a nanofluidic diode. *Phys. Rev. E*, 76(4):041202, 2007.

- [31] D. Boda, D. Henderson, and D. D. Busath. Monte Carlo study of the effect of ion and channel size on the selectivity of a model calcium channel. *J. Phys. Chem. B*, 105(47):11574–11577, 2001.
- [32] D. Boda, D. D. Busath, D. Henderson, and S. Sokołowski. Monte Carlo simulations of the mechanism for channel selectivity: The competition between volume exclusion and charge neutrality. *J. Phys. Chem. B*, 104(37):8903–8910, 2000.
- [33] D. Boda, D. D. Busath, B. Eisenberg, D. Henderson, and W. Nonner. Monte Carlo simulations of ion selectivity in a biological Na channel: Charge-pace competition. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 4(20):5154–5160, 2002.
- [34] D. Boda, D. Henderson, and D. D. Busath. Monte Carlo study of the selectivity of calcium channels: improved geometrical model. *Mol. Phys.*, 100(14):2361–2368, 2002.
- [35] D. Boda, M. Valiskó, D. Henderson, B. Eisenberg, D. Gillespie, and W. Nonner. Ion selectivity in L-type calcium channels by electrostatics and hard-core repulsion. *J. Gen. Physiol.*, 133(5):497–509, 2009.
- [36] M. Malasics, D. Boda, M. Valiskó, D. Henderson, and D. Gillespie. Simulations of calcium channel block by trivalent ions: Gd^{3+} competes with permeant ions for the selectivity filter. *Biochim. et Biophys. Acta - Biomembranes*, 1798(11):2013–2021, 2010.
- [37] D. Gillespie, L. Xu, Y. Wang, and G. Meissner. (De)constructing the ryanodine receptor: Modeling ion permeation and selectivity of calcium release channel. *J. Phys. Chem. B*, 109(32):15598–15610, 2005.
- [38] G. Rutkai and T. Kristóf. Dynamic Monte Carlo simulation in mixtures. *J. Chem. Phys.*, 132(10):124101, 2010.
- [39] M. P. Allen and D. J. Tildesley. *Computer Simulation of Liquids*. Oxford, New York, 1987.
- [40] D. Frenkel and B. Smit. *Understanding molecular simulations*. Academic Press, San Diego, 1996.
- [41] N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, and E. Teller. Equations of State Calculations by Fast Computing Machines. *J. Chem. Phys.*, 21:1087–1092, 1953.

- [42] D. Boda, M. Valiskó, B. Eisenberg, W. Nonner, D. Henderson, and D. Gillespie. The effect of protein dielectric coefficient on the ionic selectivity of a calcium channel. *J. Chem. Phys.*, 125(3):034901, 2006.
- [43] D. Boda, D. Gillespie, W. Nonner, D. Henderson, and B. Eisenberg. Computing induced charges in inhomogeneous dielectric media: Application in a Monte Carlo simulation of complex ionic systems. *Phys. Rev. E*, 69(4):046702, 2004.
- [44] A. Malasics and D. Boda. An efficient iterative grand canonical monte carlo algorithm to determine individual ionic chemical potentials in electrolytes. *J. Chem. Phys.*, 132(24):244103, 2010.
- [45] B. Widom. Structure of interfaces from uniformity of the chemical potential. *J. Stat. Phys.*, 19(6):563–574, 1978.
- [46] B. Widom. Some Topics in the Theory of Fluids. *J. Chem. Phys.*, 39(11):2808–2812, 1963.
- [47] J. L. Jackson and L. S. Klein. *Potential distribution method in equilibrium statistical mechanics*, volume 7. 1964.
- [48] T. L. Beck, M. E. Paulaitis, and L. R. Pratt. The Potential Distribution Theorem and models of molecular solutions. 2006.
- [49] W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, and B. P. Flannery. *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2nd edition, 1992.