



UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA MECÁNICA

VALPARAISO- CHILE

**MODELACIÓN NUMÉRICA DE UNA PROTEÍNA
INSERTA EN UNA MEMBRANA CELULAR
USANDO EL MÉTODO DE ELEMENTOS DE
BORDE.**

Nicolás Espinoza Muñoz

2019

Contenidos

1	Introducción	4
2	Marco Teórico	7
2.1	El campo eléctrico y el potencial eléctrico	7
2.2	La permitividad de un medio material, la polarización y el campo eléctrico microscópico	9
2.2.1	Campo eléctrico local, y polarización	10
2.2.2	Permitividad de un medio macroscópico	13
2.3	Desplazamiento eléctrico y campo eléctrico en un dieléctrico	14
2.4	Método de imágenes	16
2.4.1	Campo de reacción en un sistema con una interfaz y una carga puntual	18
2.5	El Método de Elementos de Borde	20
2.6	El contexto biológico de la membrana celular	23
3	Metodología, funcionamiento e implementación	26
3.1	Representación del modelo de solvente implícito mediante BEM	27
3.1.1	Solvent Excluded y Solvent Accesible Surface	28
3.1.2	La ecuación de Poisson - Boltzmann (PB) y la Boundary Integral Equation (BIE)	29
3.2	Descripción del software utilizado	32

3.2.1	MSMS	32
3.2.2	APBS	33
3.2.3	APBSmem	34
3.2.4	PyGBe	35
3.3	Implementación del método de imágenes en el programa PyGBe	38
3.3.1	Modelo de un sistema de tres medios dieléctricos con dos interfaces .	39
3.3.2	El método BEM y PyGBe con inclusión del efecto de la membrana .	42
4	Resultados	47
4.1	Cálculo numérico de las energías	47
4.1.1	Resultados mediante PyGBe	48
4.1.2	Resultados mediante APBS - APBSmem	48
4.2	Extrapolación de Richardson y error relativo	48
5	Conclusiones	49
5.1	Continuación del trabajo	50

Capítulo 1

Introducción

En las últimas décadas ha crecido el interés por modelar de forma más precisa el comportamiento de sistemas biológicos, destacando las células y sus componentes y procesos. Es en esta línea de investigación que surgen y se desarrollan métodos para representar las interacciones que ocurren tanto dentro de la célula como a nivel extracelular.

Sin embargo, la complejidad de estos fenómenos hace que sea imposible hasta el momento abarcar de manera completa la naturaleza del proceso biológico correspondiente. Es por esto que actualmente se estudian de manera exhaustiva nuevas formas de representar los sistemas biológicos o sus elementos conformantes, recurriendo a múltiples disciplinas y enfoques. Por nombrar ejemplos de ramas de la ciencia relevantes se tienen la electrodinámica, la termodinámica, la mecánica de sólidos, y mecánica estadística, aunque de ninguna manera son las únicas. Además, al igual que en muchas otras áreas, la computación se tomó gran parte del escenario, volviéndose quizás la herramienta más útil y usada en las investigaciones y avances en la comprensión de la biología celular.

Para modelar la fenomenología de los sistemas biológicos según las diferentes disciplinas científicas mencionadas se utiliza una cantidad de métodos computacionales, de los cuales

quizás los más conocidos son la dinámica molecular (MD) en casos explícitos y el método de elementos finitos (FEM) en casos implícitos. Por supuesto y como todo en la vida, ambos tienen sus ventajas y desventajas; un punto en contra que tienen en común ambos tipos de modelación es que en general son lentos. Por esto es que ha empezado a tomar cada vez más fuerza el método de elementos de borde/frontera (BEM), que permite resolver problemas físicos comparativamente rápido a expensas de una formulación un tanto más compleja.

El objetivo global de este trabajo consiste en obtener las ecuaciones de Green que permiten representar cargas en un medio acotado por dos interfaces paralelas, implementarlo en un programa de cálculo energético, y contrastar los resultados con aquellos de códigos o programas ya validados. Sumado a esto, la idea es que dicha implementación sea computacionalmente barata, conserve un buen nivel de precisión, y que la velocidad de cálculo sea competitiva frente a un programa de referencia en casos de estudio seleccionados. Hay que tener presente que existen otros fenómenos además de los electrostáticos que no se consideran por la gran complejidad que conllevan; por ejemplo, la inversión de carga de la membrana, la onda mecánica consecuente (o causal), etc, ya que en algunos casos ni siquiera se entiende bien su naturaleza; este trabajo se remite a electrostática de proteínas totalmente embebidas en la membrana.

El presente texto busca entonces *presentar la física que ocurre tras una interacción electrostática en medios dieléctricos, trabajando un método que permita modelar una membrana celular a partir de un sistema de tres medios separados por dos interfaces, con cargas distribuidas en el medio encerrado. Teniendo este modelo, se lo implementa en un código y se procede a la comparación con programas ya reconocidos.* En primer lugar se presenta una introducción a la teoría que permite trabajar los sistemas dieléctricos con interfaz de forma macroscópica y mediante el método de imágenes. También se echa un vistazo a la formulación que da pie al método BEM, la denominada Boundary Integral Equation de un sistema

de ecuaciones diferencial, además de contextualizar sobre aspectos básicos de la membrana para entender qué es lo que se busca. A continuación se presenta un ejemplo de formulación integral de frontera con el caso de la ecuación de Poisson - Boltzmann, que no se trabaja directamente en esta investigación, pero que va de la mano con la metodología de solvente implícito. Junto a esto, se describen los programas relevantes para este trabajo. Entrando a la parte fundamental de este trabajo, se desarrolla el método de imágenes para un sistema con dos interfaces paralelas, y cómo se incluye en la formulación, además de su implementación al programa `PyGBe`. Por último, se presentan los resultados obtenidos y cómo se comparan con los de programas como `APBS` y `APBSmem`; esto considera también la forma en que influye la variación de parámetros del método de imágenes en el resultado y los tiempos de cálculo. Tras tener estos resultados se termina presentando las conclusiones extraídas de este trabajo.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1 El campo eléctrico y el potencial eléctrico

El campo eléctrico correspondiente a una carga puntual q que se encuentra en el vacío en la posición \mathbf{r}_0 viene dado por la conocida ecuación

$$\vec{E}(\mathbf{r}) = \frac{q}{4\pi\epsilon_0} \frac{(\mathbf{r} - \mathbf{r}_0)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_0|^3} \quad (2.1.1)$$

siendo ϵ_0 la permitividad macroscópica del vacío, una medida de cómo fluye el campo eléctrico en el vacío. Por supuesto, en el caso ejemplificado en la Ec. (1), no hay un medio que reaccione, por lo que ϵ_0 es nuestra referencia. De ahora en adelante se trabaja con ϵ propio de un dieléctrico; además se elabora más sobre la permitividad en la sección siguiente.

Cuando se cuenta con N cargas puntuales, la Ecuación (2.1.1) se convierte en una sumatoria sobre todos los elementos del sistema de cargas a considerar

$$\vec{E}(\mathbf{r}) = \sum_{j=1}^{N_q} \frac{q_j}{4\pi\epsilon} \frac{(\mathbf{r} - \mathbf{r}_j)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j|^3} \quad (2.1.2)$$

Para un caso con una distribución continua de carga, se define el flujo de campo eléctrico a través de una superficie que encierra toda la distribución de carga como

$$\int_{\partial\Omega} \vec{E}(\mathbf{r}) \cdot \hat{\mathbf{n}} d\partial\Omega = \int_{\Omega} \frac{\rho}{\varepsilon} d\Omega \quad (2.1.3)$$

Esta es la ley de Gauss en forma integral. Con el teorema de la divergencia aplicado a la Ec. (2.1.3) se llega a la ley de Gauss en forma diferencial:

$$\int_{\Omega} \nabla \cdot \vec{E} d\Omega = \int_{\Omega} \frac{\rho}{\varepsilon} d\Omega \implies \nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\varepsilon} \quad (2.1.4)$$

Por otro lado, como el campo eléctrico es un campo vectorial irrotacional, se puede aplicar el teorema fundamental del cálculo para obtener su función potencial. Como $\vec{E}(\mathbf{r})$ es una variable solo de la diferencia de posiciones entre la de la carga y el punto de evaluación $|\mathbf{r} - \mathbf{r}_0|$ (función solo del radio), la integración es directa si la referencia para el potencial eléctrico se toma como 0 al infinito, quedando

$$\begin{aligned} \vec{E} = \nabla\phi \quad \rightarrow \quad \phi(\mathbf{r}) &= - \int_{\infty}^{\mathbf{r}} \vec{E}(\mathbf{r}^*) d\mathbf{r}^* \\ &= - \int_{\infty}^{\mathbf{r}} \frac{q}{4\pi\varepsilon} \frac{(\mathbf{r}^* - \mathbf{r}_0)}{|\mathbf{r}^* - \mathbf{r}_0|^3} d\mathbf{r}^* = \frac{q}{4\pi\varepsilon} \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_0|} \end{aligned} \quad (2.1.5)$$

Esto es en los casos en que se tenga una carga puntual, como en el caso de la Ec. (2.1.1). Para una carga distribuida se debe considerar la Ec. (2.1.3), lo que nos lleva a

$$\phi(\mathbf{r}) = \int_{\Omega} \frac{\rho(\mathbf{r}_0)}{4\pi\varepsilon} \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_0|} d\Omega \quad (2.1.6)$$

En los casos en que el medio en el que está la carga q no sea el vacío, se debe considerar que la materia que lo compone si reaccionará al campo eléctrico asociado a q ; en estos casos, $\varepsilon \neq \varepsilon_0$. Es decir, hay que aclarar que las Ecs. (2.1.3) y (2.1.4) no están completas, pues falta considerar el efecto de la *polarización*. Además resulta interesante entender qué es

realmente la permitividad, que esta relacionada directamente con la polarización del medio; a continuación se explican estos puntos.

2.2 La permitividad de un medio material, la polarización y el campo eléctrico microscópico

Se puede entender la constante dieléctrica de un material (o permitividad) como una medida del reordenamiento de las partículas de un medio a nivel molecular frente a la presencia de un campo eléctrico externo y provocando así que dichas partículas generen un *campo eléctrico inducido*, que es opuesto en sentido al original, pero no necesariamente de la misma intensidad; este disminuye el flujo neto del campo eléctrico externo, por lo que impide en cierta medida su paso, dando su nombre a la propiedad - en qué grado las moléculas del material **permiten** el flujo de campo eléctrico.

La permitividad que se utiliza en las Ecuaciones (2.1.1 - 2.1.6) es llamada también *constante dieléctrica* del medio, y en realidad es un concepto derivado de la susceptibilidad eléctrica y de lo que ocurre a nivel molecular en el medio dieléctrico afectado por un campo eléctrico. En el caso del vacío se menciona que no existe un medio que reaccione a la presencia de una carga (y por ende no “siente” el campo eléctrico), por lo que la constante dieléctrica del vacío es considerada como referencia. Por el contrario, en un dieléctrico si se tiene una reacción al campo eléctrico; en este caso es importante explicar qué pasa con el campo eléctrico a nivel microscópico y cómo eso se relaciona con la susceptibilidad eléctrica. Los términos microscópico y local se utilizan indistintamente [3].

2.2.1 Campo eléctrico local, y polarización

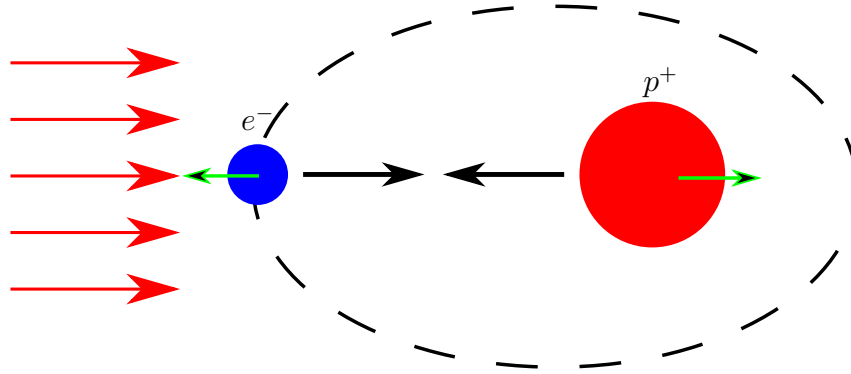


Figura 2.1: Efecto de un campo sobre la forma de un átomo. El electrón (en realidad la nube electrónica) es “halado” por el campo, mientras que el protón (o núcleo atómico) es “empujado”, induciendo así un dipolo.

Cuando se aplica un campo eléctrico externo a un cuerpo o medio (macroscópico) dieléctrico, las partículas constituyentes de los átomos se comportan de forma especial. Por ejemplo, en la Figura 2.1 se muestra un átomo simple de hidrógeno que se reordena bajo la acción de un campo externo que rompe el equilibrio eléctrico del átomo, generando así un campo eléctrico opuesto con líneas de campo (inducido) que van del protón hacia el electrón (se representa la nube electrónica con un solo electrón por simplicidad). Este efecto es la polarización, e induce un momento dipolar \mathbf{p} en los átomos afectados por el campo eléctrico a nivel local.

$$\mathbf{p} = \alpha \vec{E}^{loc} \quad (2.2.1)$$

α se conoce como la polarizabilidad microscópica, un coeficiente de proporcionalidad que representa qué tanto se polariza la especie analizada - la magnitud del momento dipolar inducido - en presencia de un cierto campo eléctrico local \vec{E}^{loc} . Por supuesto, esta es una relación constitutiva, porque α depende del material o elemento estudiado. Ahora se hace la

distinción entre los distintos campos eléctricos de interés para este apartado:

$$\begin{aligned}
 \vec{E}^{ext} &\longrightarrow \text{Campo eléctrico externo} \\
 \vec{E}^{loc} &\longrightarrow \text{Campo eléctrico local} \\
 \vec{E}^{ind} &\longrightarrow \text{Campo eléctrico inducido (microscópico)} \\
 \vec{E} &\longrightarrow \text{Campo eléctrico macroscópico}
 \end{aligned}$$

y se define la relación entre los primeros tres como

$$\vec{E}^{loc} = \vec{E}^{ind} + \vec{E}^{ext} \quad (2.2.2)$$

Es conveniente explicar que si bien se define uno de los campos como microscópico o local, esto no es el campo debido a un único átomo o molécula, sino el propio de un volumen macroscópicamente pequeño pero microscópicamente grande; por lo tanto, los términos local y microscópico son en realidad promedios sobre volúmenes más pequeños que el campo de las ecuaciones de Maxwell. Hay que notar también que si el campo eléctrico se transmite por el vacío, $\vec{E}^{ind} = 0$, y por ende $\vec{E}^{ext} = \vec{E}^{loc} = \vec{E}$. No se entra en detalle respecto al álgebra pues existen referencias sobre el tema, como por ejemplo el texto de Kantorovich [3], pero después de algo de trabajo se llega a la expresión para el campo eléctrico local, también llamado campo de Lorentz, en función del campo macroscópico

$$\vec{E}^{loc} = \vec{E}(1 + \kappa) \quad (2.2.3)$$

donde κ es un factor de corrección que depende del ordenamiento microscópico. El campo eléctrico local es el campo que siente cada uno de los muchos volúmenes pequeños que, en conjunto, componen el medio macroscópico que estamos estudiando. Por último se presenta la definición de densidad de polarización \vec{P} para cerrar el círculo de relaciones entre el dieléctrico estudiado a nivel macroscópico y microscópico. La densidad de polarización por

unidad de volumen se define de dos maneras; esto sale de diversas fuentes, pero W. Cai [4] lo resume todo de forma simple:

$$\vec{P}(\mathbf{r}) = \sum_i N_i \alpha_i \left[\vec{E}(\mathbf{r})^{loc} \right]_i = \sum_i N_i \mathbf{p}_i \quad (2.2.4)$$

$$\vec{P}(\mathbf{r}) = \varepsilon_0 \chi \vec{E}(\mathbf{r}) \quad (2.2.5)$$

con N_i la densidad numérica (*number density*) del i -ésimo átomo por unidad de volumen, y χ la susceptibilidad del medio dieléctrico (que en el caso del vacío es 0). Antes de continuar el desarrollo, se procede a definir qué son la densidad de polarización y la susceptibilidad. Como concepto, la densidad de polarización es la polarización a nivel macroscópico, por unidad de volumen, causada por todos los momentos dipolares inducidos en las moléculas de dicho volumen asociados al campo eléctrico que los induce. Por otra parte, la susceptibilidad permite relacionar un campo eléctrico macroscópico con los efectos que este tiene en el momento dipolar de las partículas en un volumen a través de la densidad de polarización, como se indica en la Ec. 2.2.5; más allá de ser una constante de proporcionalidad, la susceptibilidad indica de forma promediada cómo influye el campo eléctrico en la orientación de los dipolos, y cómo varía el momentum dipolar del medio a nivel macroscópico en presencia del campo eléctrico. Hay que resaltar que esto no implica traslación o *migración* electrónica, sino solo rotación del átomo o molécula para la reorientación del dipolo, intentando alinearlos con el campo.

Para terminar esta parte del desarrollo teórico, de las Ecs. (2.2.3 - 2.2.5) y sabiendo que el campo macroscópico es el mismo, se puede deducir que

$$\vec{P}(\mathbf{r}) = \varepsilon_0 \chi \vec{E}(\mathbf{r}) = \vec{E}(\mathbf{r}) \sum_i N_i \alpha_i (1 + \kappa_i) \implies \varepsilon_0 \chi = \sum_i N_i \alpha_i (1 + \kappa_i) \quad (2.2.6)$$

Un caso particular es la teoría de Clausius-Mossotti. Aquí el valor de $\kappa_i = \kappa$ es $\chi/3$; uno de los supuestos es que la distribución molecular es una malla cúbica regular.

Con esto se puede entender de manera general cómo se relacionan el campo eléctrico macroscópico y microscópico. El propósito de este apartado es simplemente aclarar que ambos análisis no son independientes y que el tratamiento de continuo que se dará en lo sucesivo está fundamentado en teoría del comportamiento eléctrico molecular; es por esto que se omiten pasos y solo se presentan resultados que se consideran importantes.

2.2.2 Permitividad de un medio macroscópico

Ya se explicó qué son la susceptibilidad y densidad de polarización, por lo que se procede a definir un poco mejor qué es la permitividad, profundizando en lo que se mencionó al principio de la Sección 2.2. Primero corresponde aclarar que la permitividad es netamente una propiedad macroscópica del medio, pero se prefiere caer en la redundancia un par de veces, como en el caso del título de esta sección, para reafirmar este punto. Cuando un campo eléctrico afecta un medio dieléctrico, los dipolos no solo se intentan alinear con las líneas de campo, sino que además hay un *movimiento de cargas libres* dentro del cuerpo. Sumado a esto está el hecho de que los átomos conformantes del medio rompen el estado de equilibrio, pues los protones son repelidos por el campo, mientras que los electrones son atraídos por este (Fig. 2.1). Dicho efecto genera que se formen nuevos dipolos y en consecuencia que haya un momento dipolar distinto al original en el medio; es por esta razón que la susceptibilidad se relaciona con la permitividad. Teniendo presentes los fenómenos recién nombrados, se reitera la definición de permitividad o constante dieléctrica como una cuantificación macroscópica promedio de la tendencia de un medio (en este caso un dieléctrico) a oponerse al flujo de campo eléctrico por alguno de los mecanismos nombrados anteriormente.

Existen tres *permitividades* de interés para este desarrollo: la permitividad del vacío ε_0 , la

permitividad propia de un material ε , y la permitividad relativa o constante dieléctrica, a la que en este caso se da más importancia

$$\varepsilon_r = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} = \varepsilon_0(1 + \chi) \quad (2.2.7)$$

(llamada k en algunas fuentes). De ahora en adelante, ε a secas pasa a ser la permitividad relativa y se denomina simplemente *permitividad* o *constante dieléctrica* de un medio.¹

2.3 Desplazamiento eléctrico y campo eléctrico en un dieléctrico

En lo sucesivo, todo el trabajo es relativo a un medio o campo macroscópico. En este informe no se trabaja directamente con los momentos dipolares, la susceptibilidad, o incluso con la densidad de polarización, sino que se presenta una sola ecuación que engloba todos los efectos de un campo eléctrico sobre un dieléctrico; para llegar a dicha ecuación se utilizan las relaciones ya introducidas y un par de definiciones nuevas.

La Ec. (2.2.5) es una expresión que asocia el campo eléctrico y la densidad de polarización, establecida a través de la susceptibilidad y la permitividad. Además, la Ecuación (2.1.3) es la ley de Gauss para una distribución de carga, que tiene que ver únicamente con la permitividad.

Si se asume que el flujo de campo eléctrico se debe a contribuciones de la distribución de carga y de la polarización del medio únicamente, entonces se puede expresar dicho flujo de campo eléctrico como

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho - \nabla \cdot \vec{P}}{\varepsilon_0} \quad (2.3.1)$$

¹En estricto rigor, la constante dieléctrica es $\varepsilon_r \cdot \varepsilon_0$, pero por costumbre se utiliza este término para referirse a la propiedad adimensional en este informe.

Se define entonces el *desplazamiento eléctrico* como

$$\vec{D} = \vec{E} + \vec{P} = \varepsilon_0 \vec{E}(1 + \chi) \quad (2.3.2)$$

lo que nos permite escribir la Ec. (2.3.1) como

$$\nabla \cdot \vec{D} = \rho \quad (2.3.3)$$

Esto corresponde al efecto completo del flujo de campo eléctrico sobre el medio. En general, en la Ec.(2.3.2) se asocia el campo eléctrico \vec{E} a las cargas libres (free charges) y la densidad de polarización \vec{P} a las cargas fijas (bound charges), pero para el objetivo de este texto eso no es relevante.

Siguiendo con la idea, recordando que ahora $\varepsilon_r = \varepsilon$ y suponiendo que la permitividad es una propiedad isotrópica, y usando la Ec. (2.2.7) en la (2.3.2), se puede obtener

$$\vec{D} = \varepsilon \vec{E} \quad \bigg/ \quad \nabla \cdot \quad \rightarrow \quad \nabla \cdot \vec{D} = \nabla \cdot (\varepsilon \vec{E}) = \nabla(\varepsilon) \cdot \vec{E} + \varepsilon \nabla \cdot \vec{E} = \rho \quad (2.3.4)$$

Aún más, si la permitividad del medio es constante sobre el mismo, entonces el término $\nabla(\varepsilon) \cdot \vec{E}$ se anula.

Es así que se retorna a la ecuación de la que prácticamente parte el desarrollo de la teoría, la ley de Gauss.

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\varepsilon} \quad (2.3.5)$$

El gran progreso es haber demostrado que (2.1.4) no solo sirve para calcular el campo eléctrico en el vacío, sino que se puede aplicar a los dieléctricos en general y que incluso se consideran los efectos de polarización inducidos.

2.4 Método de imágenes

En la teoría electrostática hay ocasiones en que hay que trabajar con interfaces que separan distintos medios dieléctricos. El método de imágenes destaca por su simpleza en este tipo de escenarios. La idea es que cargas en un medio inducirán un campo opuesto en el otro, el denominado campo de reacción. A su vez este campo inducido afectará al campo en el primer medio, por lo que hay que encontrar una expresión para el comportamiento de los campos eléctricos en los dos medios; por supuesto, este problema no se soluciona simplemente con aplicar la Ec. (2.1.1).

El método de imágenes facilita la resolución del problema de una forma simple: En vez de considerar la polarización y el consecuente campo inducido por el segundo medio como un todo, se hace más fácil poner una carga o distribución de cargas imágenes (puede ser incluso una distribución continua) de tal forma que el efecto de dicha carga sobre el primer medio sea el mismo que si hubiera un campo de reacción. Para esto uno analiza los distintos medios por separado en vez de como un sistema.

Como la interfaz es un límite para el espacio de análisis, es aquí donde se establecen las condiciones de frontera. Para un sistema de coordenadas adecuado al problema, existen condiciones para la componente normal del campo y para su componente tangencial justo en la interfaz. Matemáticamente esto es

$$\epsilon_1 \vec{E}_1 \cdot \hat{n} = \epsilon_2 \vec{E}_2 \cdot \hat{n} \quad (2.4.1)$$

$$\vec{E}_1 \cdot \hat{t} = \vec{E}_2 \cdot \hat{t} \quad (2.4.2)$$

En este caso, \hat{n} es un vector normal a la superficie interfaz, y \hat{t} un vector tangencial a la misma. En palabras, las Ecs. (20) y (21) nos indican que hay un cambio en la componente normal del campo igual a ϵ_1/ϵ_2 ; esto es, hay un salto en la componente normal. Como

ejemplo se tiene el caso más simple, con dos dieléctricos homogéneos isotrópicos ($\epsilon = cte$) en la Figura 2. Hay que notar que, como se dijo, al trabajar de esta forma se analizan los medios por separado, y se debe considerar el efecto de la carga imagen que representa el campo de reacción solo en el medio 1.

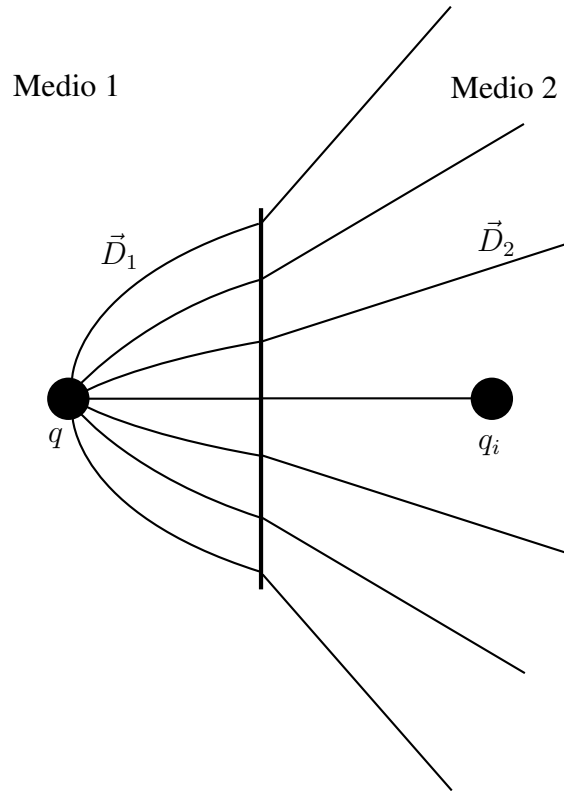


Figura 2.2: Se observan las líneas de desplazamiento eléctrico, que dan cuenta del efecto de la polarización.

La idea es determinar qué valor tiene que tener la carga o conjunto de cargas necesarias, que pueden ser continuas o discretas, en función de los parámetros que si se conocen en el sistema. En el caso particular de que la interfaz sea una placa cargada de espesor infinitesimal y los medios a analizar tengan la misma constante dieléctrica, se llega al resultado elemental de un salto (discontinuidad) en la componente normal del campo eléctrico dado por

$$(\vec{E}_2 - \vec{E}_1) \cdot \hat{n} = \frac{\sigma}{\epsilon_m} \quad (2.4.3)$$

con σ la densidad superficial de carga y ϵ_m la constante dieléctrica de los medios que rodean al plano.

Se desarrolla más a cabalidad el tema en lo sucesivo, ya que forma parte del problema clave que motiva este escrito. Se presenta un desarrollo del caso planteado con el sistema de ecuaciones, y se analiza un sistema con dos interfaces paralelas, todo mediante el método de imágenes.

2.4.1 Campo de reacción en un sistema con una interfaz y una carga puntual

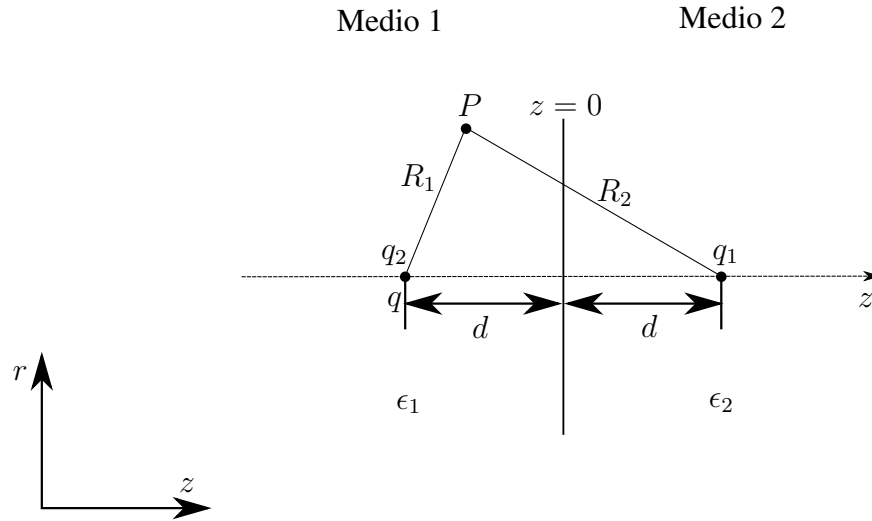


Figura 2.3: Sistema de una carga real y dos imaginarias para representar el campo de reacción, con el cambio de medio en $z = 0$. Se consideran dos espacios semi-infinitos a partir de este plano.

En primer lugar se tiene un caso simple, presente en la mayoría de los libros de electrodinámica, que consiste en una carga en un medio 1 y una interfaz que separa a este último de un medio 2; el caso en cuestión se presenta en la Figura 3. El campo eléctrico viene dado por la Ec. (2), y tiene como condiciones de contorno las presentadas en las Ecs. (20) y (21). El potencial en

algún punto P en el medio 1 viene dado por el potencial de una carga q real y la carga imagen q_1 , que representa el campo de reacción del medio 2 a causa de q . Además el potencial en el medio 2 ya no es debido únicamente a la carga q , pues el medio dieléctrico reacciona; esto se representa por una nueva carga imagen q_2 . En este caso, $R_2 = \sqrt{r^2 + (z \pm d)^2}$, el signo dependiendo de si la carga, ya sea imaginaria o real, esta hacia la izquierda o derecha del plano $z = 0$.

No es complejo realizar el desarrollo, remplazando la expresión para el campo en las condiciones de contorno. Con un poco de álgebra se puede llegar a una forma de escribir las cargas q_1 y q_2 en función de la carga q , así como de las permitividades de los medios. Se muestra a continuación un paso a paso breve de cómo se resuelve el sistema. Si ϕ_1 es el potencial para algún punto en el medio 1, y ϕ_2 es el potencial en el medio 2, se tiene

$$\phi_1 = \frac{1}{4\pi\epsilon_1} \left(\frac{q}{\sqrt{r^2 + (z-d)^2}} + \frac{q_1}{\sqrt{r^2 + (z+d)^2}} \right) \quad (2.4.4)$$

$$\phi_2 = \frac{1}{4\pi\epsilon_2} \left(\frac{q_2}{\sqrt{r^2 + (z-d)^2}} \right) \quad (2.4.5)$$

Derivando estas expresiones y remplazándolas en la condición de contorno (20) se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones 2x2

$$\begin{aligned} & \frac{\partial}{\partial z} \left[\epsilon_1 \cdot \left(\frac{q}{4\pi\epsilon_1} \frac{1}{\sqrt{r^2 + (z-d)^2}} + \frac{q_1}{4\pi\epsilon_1} \frac{1}{\sqrt{r^2 + (z+d)^2}} \right) \right]_{z=0} = \\ & \frac{\partial}{\partial z} \left[\epsilon_2 \cdot \left(\frac{q_2}{4\pi\epsilon_2} \frac{1}{\sqrt{r^2 + (z-d)^2}} \right) \right]_{z=0} \\ \Rightarrow & d \cdot \left(\frac{q}{\sqrt{(r^2 + (-d)^2)^3}} - \frac{q_1}{\sqrt{(r^2 + d^2)^3}} \right) = d \cdot \left(\frac{q_2}{\sqrt{(r^2 + (-d)^2)^3}} \right) \\ \Rightarrow & q - q_1 = q_2 \end{aligned} \quad (2.4.6)$$

Para el caso de la condición de contorno (21) se remplazan también las expresiones de $\partial_r \phi_1$ y $\partial_r \phi_2$, pero en este caso no se simplifican las permitividades, por lo que se llega a una expresión que las incluye:

$$\begin{aligned}
 & \frac{\partial}{\partial r} \left(\frac{q}{4\pi\epsilon_1} \frac{1}{\sqrt{r^2 + (z-d)^2}} + \frac{q_1}{4\pi\epsilon_1} \frac{1}{\sqrt{r^2 + (z+d)^2}} \right)_{z=0} = \\
 & \frac{\partial}{\partial r} \left(\frac{q_2}{4\pi\epsilon_2} \frac{1}{\sqrt{r^2 + (z-d)^2}} \right)_{z=0} \\
 \Rightarrow & \frac{r}{\epsilon_1} \cdot \left(\frac{q}{\sqrt{(r^2 + (-d)^2)^3}} + \frac{q_1}{\sqrt{(r^2 + d^2)}} \right) = \frac{r}{\epsilon_2} \cdot \left(\frac{q_2}{\sqrt{(r^2 + (-d)^2)^3}} \right) \\
 \Rightarrow & \frac{1}{\epsilon_1} (q + q_1) = \frac{q_2}{\epsilon_2} \tag{2.4.7}
 \end{aligned}$$

Ahora, del sistema que conforman las Ecs. (25) y (26), se obtiene la expresión para las cargas imagen en función de los parámetros conocidos del sistema:

$$q_1 = - \left(\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + \epsilon_1} \right) \cdot q \tag{2.4.8}$$

$$q_2 = \left(\frac{2\epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2} \right) \cdot q \tag{2.4.9}$$

Luego, el potencial en cualquier punto en el espacio se trabaja dependiendo de en qué medio se ubica dicho punto, y para calcular su valor se utilizan las Ecs. (23) y (24) dependiendo de dónde se encuentra; por supuesto, esto remplazando los valores de q_1 y q_2 por los de las Ecs. (27) y (28).

2.5 El Método de Elementos de Borde

Previamente ya se mencionó el uso del método de elementos de borde (BEM) para aplicar el modelo derivado del método de imágenes para membranas. El método BEM actúa partiendo del mismo principio de debilitar una ecuación diferencial que el método de elementos fini-

tos FEM, pero en este caso la discretización no ocurre sobre el dominio de integración de la ecuación diferencial, sino sobre su contorno.

El método comienza tomando la formulación débil de una ecuación diferencial, en este caso se utiliza la ecuación de Laplace, multiplicada por una función ψ tal que

$$\int \nabla^2 \phi \cdot \psi = 0 \quad (2.5.1)$$

Con esto como punto de partida, se procede a debilitar la ecuación de Laplace, integrando por partes

$$\int_{\Omega} \nabla^2 \phi \cdot \psi \, d\Omega = \int_{\Omega} \nabla(\nabla \phi \cdot \psi) - \nabla \phi \cdot \nabla \psi \, d\Omega = 0 \quad (2.5.2)$$

Respecto al integrando del lado derecho, si se aplica la ley de Gauss al primer término y se integra por partes el segundo, se llega a

$$\int_{\partial\Omega} (\nabla \phi \cdot \psi) \cdot \hat{\mathbf{n}} \, d\partial\Omega - \int_{\Omega} [\nabla \cdot (\nabla \psi \cdot \phi) - \nabla^2 \psi \cdot \phi] \, d\Omega = 0 \quad (2.5.3)$$

Por último, al aplicar nuevamente el teorema de la divergencia al primer término de la segunda integral, se obtienen dos integrales de superficie y una de volumen.

$$\int_{\partial\Omega} (\nabla \phi \cdot \psi - \nabla \psi \cdot \phi) \cdot \hat{\mathbf{n}} \, d\partial\Omega = - \int_{\Omega} \phi \cdot \nabla^2 \psi \, d\Omega \quad (2.5.4)$$

Si en particular $\nabla^2 \psi$ corresponde a una función delta de Dirac ($\delta(\mathbf{r})$), entonces la integral del lado derecho es ϕ evaluado en los puntos seleccionados por la función δ . Para que se cumpla $\nabla^2 \psi = -\delta(\mathbf{r}^*)$, ψ debe ser una función de Green

$$\psi = G(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) = \frac{k}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}^*|} \quad (2.5.5)$$

donde k es una constante que no afecta la proporcionalidad inversa respecto del radio. Aquí $\mathbf{r} = \mathbf{r}_\Omega$ y $\mathbf{r}^* = \mathbf{r}_\Omega^*$, significando que ambos corren sobre el mismo dominio de integración, pero son independientes uno del otro. De esta manera, la Ecuación **TANTO** queda con la forma final

$$\int_{\Omega} \phi(\mathbf{r}_\Omega) \delta(\mathbf{r}_\Omega^*) d\Omega = \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi(\mathbf{r}_{\partial\Omega}) \cdot G(\mathbf{r}_\Omega, \mathbf{r}_{\partial\Omega}) - \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G(\mathbf{r}_\Omega, \mathbf{r}_{\partial\Omega}) \cdot \phi(\mathbf{r}_{\partial\Omega}) d\partial\Omega \quad (2.5.6)$$

En los casos en que se produzca una singularidad debido a que $\mathbf{r}_\Omega \rightarrow \mathbf{r}_{\partial\Omega}$, los valores de las integrales de superficie son

$$\int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi \cdot G = 0 \quad (2.5.7)$$

$$\int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G \cdot \phi = -\frac{\phi}{2} \quad (2.5.8)$$

En este escrito se omite la demostración correspondiente debido a que no se considera relevante más allá del resultado, pero un desarrollo metódico se puede encontrar en textos de la materia, como por ejemplo el libro de Brebbia [5].

En síntesis, la Ecuación (30) permite obtener ϕ en el dominio Ω contenido por una superficie $\partial\Omega$; por otro lado, para calcular ϕ sobre el contorno $\partial\Omega$, se aplican los resultados (31) y (32) en la Ecuación (30) y se obtiene

$$\frac{\phi(\mathbf{r}_{\partial\Omega})}{2} = \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi(\mathbf{r}_{\partial\Omega}) \cdot G(\mathbf{r}_{\partial\Omega}, \mathbf{r}_{\partial\Omega}^*) - \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G(\mathbf{r}_{\partial\Omega}, \mathbf{r}_{\partial\Omega}^*) \cdot \phi(\mathbf{r}_\Omega) d\partial\Omega \quad (2.5.9)$$

En ambos casos ($\mathbf{r}_{\partial\Omega}$ y $\mathbf{r}_{\partial\Omega}^*$) la aplicación es sobre la misma superficie $\partial\Omega$. Es importante considerar que la aplicación del método BEM que se ha hecho hasta ahora es para la ecuación de Laplace. En caso de que la ecuación gobernante del fenómeno bajo estudio sea otra, corre-

sponde hacer una derivación para dicha situación. Afortunadamente, para lo desarrollado en el presente texto no hace falta más.

2.6 El contexto biológico de la membrana celular

A pesar de haber mencionado la teoría sobre el comportamiento de cargas en un medio, el método de imágenes, y el método BEM que permite llevar todo esto a aplicaciones numéricas, estos pueden aún parecer tópicos un tanto aislados unos de otros, e incluso abstractos en cierta medida. Como consecuencia se presenta el contexto biológico que motiva la búsqueda de un modelo para integrar el efecto de la membrana celular en el que se encuentran insertas algunas proteínas.

Una célula se compone de distintas estructuras funcionales que permiten transformar moléculas en energía, enviar y recibir señales de tipo químico y eléctrico, permitir el paso de compuestos desde y hacia el exterior de la célula, entre otros. Las proteínas son probablemente el tipo de macromolécula con la mayor diversidad de funciones en el entorno celular, y su importancia en el quehacer de la membrana, sea este el flujo de elementos o la conducción de señales, por ejemplo, es fundamental. La membrana plasmática se compone de una cadena de fosfolípidos, uno al lado del otro, que rodean el citoplasma (fluido intracelular) y separan el interior de la célula, con estructuras y todo, del fluido extracelular. Más aún, la membrana celular, también llamada bicapa fosfolipídica debido a su composición, es la encargada de definir la frontera de ciertos organelos de la célula; las lisosomas, mitocondrias y el mismo núcleo celular son algunos.

Los fosfolípidos son un tipo de molécula conformado por dos “colas” de ácidos grasos que se unen a un glicerol. Para completar la molécula, también hay un fosfato enlazado al glicerol, que lleva por el lado opuesto una unión con una colina. Para efectos de este trabajo, lo que

hay que rescatar es el hecho de que las colas son hidrófobas, mientras que la "cabeza" conformada por el glicerol, el fosfato y el compuesto polar, la colina, son la parte hidrófila del fosfolípido. La Figura 5 muestra tanto una vista en corte de la membrana como un detalle de la composición del fosfolípido. La importancia de la hidrofobicidad e hidrofiliidad de las colas y cabezas respectivamente, es la orientación que toman los fosfolípidos al conformar la membrana. Esto es lo mismo que sucede con las proteínas insertas en la membrana, ocupando lugares en la pared celular que permiten minimizar la exposición al agua de los aminoácidos conformantes que tengan una pobre afinidad al agua y maximizando la de los que tengan una afinidad alta.

La pared celular no tiene un espesor definido, sino que varía en función de la sección que se está analizando y de las proteínas de membrana que haya insertas, y de forma más considerable según qué célula se está estudiando. Sin embargo, actualmente existe un valor aceptado y definido para *células estándar* de 8 [nm] [14]. Para efectos de las proteínas embebidas y la mayoría de los eventos que ocurren y tienen relación con la membrana celular, el espesor es la única dimensión de importancia y para efectos prácticos la membrana puede considerarse un mar infinito de fosfolípidos y proteínas.

Como última propiedad de interés, se menciona que la membrana no es en ningún caso plana, ni tampoco rígida. Por el contrario, los fosfolípidos están en constante movimiento, provocando un movimiento de ondulación en la bicapa, permitiendo entre otras cosas la formación de vacuolas y el desplazamiento de la célula. Entre estos movimientos están el desplazamiento "horizontal", que se efectúa en el plano de la membrana y es muy común, y el denominado "*flip - flop*", que corresponde a un cambio de ubicación entre dos fosfolípidos de forma transversal a la membrana; se puede decir que es un intercambio de lugar.

La membrana es la estructura fundamental de este estudio, pero es importante no dejar fuera

el medio en el que esta dicha membrana. Ya se nombraron los fluidos intra y extracelular, por lo que corresponde caracterizarlos un poco. El primer factor a considerar es que el ambiente en el que está la membrana es principalmente salino o, dicho más formalmente, una disolución con una cierta concentración de especies iónicas. En segundo lugar, dicha solución no es homogénea, sino que sigue una distribución que, junto a ciertas propiedades como la diferencia de potencial, propicia el intercambio iónico a través de la membrana.

Capítulo 3

Metodología, funcionamiento e implementación

Actualmente existen dos modelos ampliamente utilizados para representar un solvente. Uno se basa en una consideración de cada átomo que conforma el solvente de forma explícita, modelando el problema con dinámica molecular, y la otra en un modelo continuo, en el que se trabaja el solvente como un medio dieléctrico con propiedades representativas ponderadas.

El primer modelo tiene la gran ventaja de que permite una precisión enorme, pues es una consideración de todas las partículas de manera explícita, una por una, y los fenómenos que ocurren en todas las interacciones. El gran nivel de detalle de este modelo resulta también ser su gran debilidad, pues la cantidad de cálculos que hay que hacer depende del número de partículas del sistema, significando un gran costo computacional.

El segundo modelo permite omitir la consideración de partículas individuales al seguir un enfoque continuo, pero al no ser una representación detallada del sistema, el modelo cae en impresiones; un ejemplo de esto es no tomar en cuenta las fuerzas de van der Waals u otros fenómenos que ocurren a distancias muy pequeñas. A continuación se empieza a ensamblar

la teoría presentada en la sección previa, explicando cómo el método BEM permite modelar una proteína inmersa en una solución a través de una discretización de la interfaz que los separa, cómo se genera dicha interfaz y qué es lo que se busca a partir de estos cálculos.

3.1 Representación del modelo de solvente implícito mediante BEM

Ya se caracterizó el modelo de solvente implícito y cómo funciona. Un resultado de esto es, en el caso de que haya una distribución de iones libres en el solvente, la ecuación de Poisson - Boltzmann, que en resumidas cuentas toma la ecuación de Poisson y aplica una distribución de Boltzmann para incluir el efecto de los iones en una solución, por ejemplo salina.

$$-\nabla \cdot (\varepsilon(\mathbf{r}) \cdot \nabla \phi(\mathbf{r})) = \rho(\mathbf{r}) + \sum_i e z_i n_i^0 \cdot \exp\left(-\frac{e z_i \phi}{k_B T}\right) \quad (3.1.1)$$

donde e es la carga del electrón, z_i la carga de la i -ésima especie de ion, n_i^0 es el number density de dicha especie de ion, k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura del sistema. Como esta ecuación varía con una exponencial, se busca linealizarla para facilitar su aplicación en cálculos

$$-\nabla \cdot (\varepsilon(\mathbf{r}) \cdot \nabla \phi(\mathbf{r})) = \rho(\mathbf{r}) + \sum_i e z_i n_i^0 \cdot \left(1 - \frac{e z_i \phi}{k_B T}\right) \quad (3.1.2)$$

La suma es sobre todas las i especies iónicas en la solución. Tras el supuesto de que la solución no tiene una carga neta, sino que es neutra ($\sum_i e z_i n_i^0 = 0$) y si además no hay una dependencia espacial de ε , se llega a la ecuación de Poisson - Boltzmann utilizada

comúnmente en los modelos implícitos

$$\begin{aligned}\nabla^2\phi(\mathbf{r}) - \kappa^2\phi(\mathbf{r}) &= -\frac{1}{\varepsilon}\rho(\mathbf{r}) \\ \kappa^2 &= \frac{e}{\varepsilon k_B T} \sum_i en_i^0 z_i^2\end{aligned}\tag{3.1.3}$$

Siendo κ el inverso del largo de Debye, y es una medida del apantallamiento eléctrico a causa de las cargas móviles de los iones en solución.

Ahora, esto sirve más que nada de contexto para introducir la forma de trabajo del método BEM, así como los conceptos de Solvent Accesible Surface, Solvent Excluded Surface y energía de solvatación. Además es interesante comprender cómo atacar una distribución iónica en electrostática continua.

El método BEM requiere una superficie que permita diferenciar dos dominios. Es esta interfaz la que se discretiza y sobre la cual se integran las ecuaciones que modelan la propiedad a trabajar. En el caso de una proteína en un solvente existen por lo menos dos, pues la interfaz es una y hay un medio a cada lado. En primer lugar es importante saber cómo se establece esta superficie.

3.1.1 Solvent Excluded y Solvent Accesible Surface

De lo que se ha percibido a lo largo de este estudio, los dos métodos que se emplean usualmente para representar una superficie característica de una proteína son los que se indican en el título de esta parte. Ambos consisten en utilizar una *sonda*, por lo general una molécula de agua, que interactúa con los radios de van der Waals de los átomos de la proteína. Si por ejemplo se quiere mapear la superficie exterior de la proteína o macromolécula, se hace “*rodar*” una molécula de agua por sobre los radios de van der Waals de los átomos exteriores, de tal modo que la distancia entre los centros de un átomo de la macromolécula y el de la sonda

de agua sea la suma de los radios de cada uno.

En el caso de la Solvent Accesible Surface (SAS), el centro de la molécula de agua es lo que define la superficie de trabajo. Esto genera puntas como se puede apreciar en la Figura **TANTO**. La distancia entre el centro del átomo a sondear y la SAS es entonces la suma del radio de van der Waals de dicho átomo y el radio de la molécula de sondeo.

Por otra parte, la Solvent Excluded Surface (SES) considera el borde de la sonda como la definición de la superficie de la macromolécula. La superficie generada es por tanto suave, pues siempre consta al menos de una sección de arco de la sonda. La distancia entre el centro de un átomo de la macromolécula y la SES ya no está definida de forma tan clara como en el caso de la SAS, y a pesar de que en algunos casos coincide con ser simplemente el radio de van der Waals de dicho átomo, esto no es una regla.

A pesar de las diferencias, no existe una razón para preferir una sobre la otra, y depende simplemente de lo que se busque lograr en cada situación. En el caso de este trabajo, y principalmente por heredar la metodología que se venía aplicando de antes, se utiliza la Solvent Excluded Surface para definir la superficie de las moléculas de estudio.

3.1.2 La ecuación de Poisson - Boltzmann (PB) y la Boundary Integral Equation (BIE)

Teniendo ya la ecuación PB, se presenta rápidamente el caso del sistema para una proteína en un solvente con iones; el objetivo de esto es presentar la forma de uso del método BEM, aplicado específicamente a una discretización de superficie protéica. Para esto hay que considerar que hay dos medios en el sistema, y una interfaz: el sistema exterior, que como es usual consiste en agua salina Ω_1 , el ensamblaje de N_q átomos con q_i cargas netas que conforman la proteína y que será el sistema interior Ω_2 , y la Solvent Excluded Surface que se asume

separa ambos dominios recién nombrados, encerrando al segundo de estos.

Las ecuaciones corresponden entonces a Poisson por dentro, pues existe una distribución de cargas puntuales en un medio dieléctrico, y Poisson - Boltzmann por fuera, lo que considera la teoría explicada anteriormente. De lo presentado sobre el método BEM en la Sección **TANTO**, se sabe que el sistema cumple con

$$\frac{\phi(\mathbf{r}_{\partial\Omega})}{2} = \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi(\mathbf{r}_{\partial\Omega}) \cdot G(\mathbf{r}_{\partial\Omega}, \mathbf{r}_{\partial\Omega}^*) - \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G(\mathbf{r}_{\partial\Omega}, \mathbf{r}_{\partial\Omega}^*) \cdot \phi(\mathbf{r}_{\Omega}) d\partial\Omega^* \quad (3.1.4)$$

Esta ecuación es válida para ambas direcciones hacia la interfaz. Es decir, si es que la aproximación a la superficie de la proteína ocurre por fuera, la ecuación es igualmente válida que si ocurre por dentro. Ambos dominios, y por ende ambas ecuaciones gobernantes, se encuentran en la SES, por lo que es ahí donde se aplican las condiciones de contorno de electrostática presentadas en la Sección **TANTO**.

$$\phi_1 = \phi_2 \quad \epsilon_1 \frac{\partial \phi_1}{\partial n} = \epsilon_2 \frac{\partial \phi_2}{\partial n} \quad (3.1.5)$$

Llevando ambas ecuaciones a una formulación integral sobre la frontera, el sistema 2×2 para una proteína en solución con iones queda [6]

$$\frac{\phi_1(\mathbf{r}^*)}{2} - \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G_Y(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) \cdot \phi(\mathbf{r}) d\partial\Omega + \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi(\mathbf{r}) \cdot G_Y(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) d\partial\Omega = 0 \quad (3.1.6)$$

$$\begin{aligned} \frac{\phi_2(\mathbf{r}^*)}{2} + \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G_L(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) \cdot \phi(\mathbf{r}) d\partial\Omega - \\ \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi(\mathbf{r}) \cdot G_L(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) d\partial\Omega = \frac{1}{4\pi\epsilon} \sum_{j=0}^{N_q} \frac{q_j}{\mathbf{r} - \mathbf{r}_j} \end{aligned} \quad (3.1.7)$$

La segunda ecuación es la ecuación de Poisson de electrostática **TANTO**, con una distribución de cargas puntuales. Las variables de \mathbf{r} y \mathbf{r}^* corresponden a una evaluación sobre la superficie $\partial\Omega$, mientras que \mathbf{r}_i son las posiciones de las mencionadas cargas puntuales. Los subíndices

L e Y son propios de *Laplace* y *Yukawa*. La función de Green de Laplace ya se presentó en **TANTO**, mientras que la función de Green de Yukawa, que corresponde a la ecuación de Poisson - Boltzmann, es

$$G_Y(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) = \frac{\exp(-\kappa \cdot |\mathbf{r} - \mathbf{r}^*|)}{4\pi|\mathbf{r} - \mathbf{r}^*|} \quad (3.1.8)$$

Para simplificar la notación, se presentan los operadores Single y Double-Layer Potential; los subíndices L e Y retienen el significado del párrafo anterior.

$$\text{Single-Layer Potential:} \quad V^{\mathbf{r}}(\phi(\mathbf{r})) = \int_{\partial\Omega} \phi(\mathbf{r}^*) \cdot G(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) d\partial\Omega^* \quad (3.1.9)$$

$$\text{Double-Layer Potential:} \quad K^{\mathbf{r}}(\phi(\mathbf{r})) = \int_{\partial\Omega} \phi(\mathbf{r}^*) \cdot \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G(\mathbf{r}, \mathbf{r}^*) d\partial\Omega^* \quad (3.1.10)$$

Al aplicar las condiciones de contorno, el sistema de ecuaciones deriva en

$$\frac{\phi_2(\mathbf{r})}{2} + K_L(\phi_2(\mathbf{r})) - V_L \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi_2(\mathbf{r}) \right) = \frac{1}{4\pi\epsilon_2} \sum_{j=0}^{N_q} \frac{q_j}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j|} \quad (3.1.11)$$

$$\frac{\phi_2(\mathbf{r})}{2} - K_Y(\phi_2(\mathbf{r})) + \frac{\epsilon_2}{\epsilon_1} V_Y \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi_2(\mathbf{r}) \right) = 0 \quad (3.1.12)$$

Ahora bien, si se subdivide la superficie de la proteína en N paneles, en este caso triangulares, las ecuaciones siguen siendo válidas para cada panel; estas se trabajan *colocándolas* en los centroides de cada panel (llamado a partir de ahora *punto de colocación*), permitiendo así su discretización de forma representativa.

Las propiedades que se buscan, potencial y su derivada respecto a la normal, son incógnitas. Se asume entonces que dichas propiedades son constantes sobre un mismo panel, por lo que salen de la integral respectiva en ambas ecuaciones y se genera un sistema de la forma

$$\underline{A}\mathbf{x} = \mathbf{b}$$

$$\begin{pmatrix} \frac{1}{2} + K_L & -V_L \\ \frac{1}{2} - K_Y & V_Y \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \phi \\ \frac{\partial}{\partial \mathbf{n}} \phi \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{1}{4\pi\epsilon} \sum_{i=0}^{N_q} \frac{q_i}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i|} \\ 0 \end{pmatrix} \quad (3.1.13)$$

Resolviendo **TANTO (la de recién)** para los N paneles se calcula la energía potencial del sistema, y multiplicando por una serie de factores de transformación de unidades, se obtiene la energía de solvatación de la proteína en el solvente. Se adjunta una definición de *energía de solvatación* en el Anexo de este escrito. Se profundiza más sobre el cálculo energético en el siguiente apartado.

3.2 Descripción del software utilizado

En el transcurso de este trabajo se hizo uso de una serie de programas para ayudar a implementar el modelo encontrado, probarlo, o comparar los resultados obtenidos. En esta sección se mencionan y describen, en mayor o menor profundidad, los cuatro softwares sin los cuales esta memoria no podría haberse realizado.

3.2.1 MSMS

Este resulta el programa menos utilizado directamente en el trabajo, pero que sin embargo es fundamental y de hecho es utilizado de una u otra forma por los siguientes programas en esta sección. MSMS permite mallar la superficie de un átomo o conjunto de átomos, entreando la Solvent Excluded Surface (SES), en función de un “radio de sondeo”, habilitando al usuario a definir una variedad de parámetros que facilitan obtener modelos para realizar diferentes pruebas. El programa está escrito en lenguaje C y arroja un par de archivos, uno con una numeración para identificar los triángulos, y el otro con las coordenadas de los vértices de dichos triángulos. Más allá de esto, no es necesario ahondar en el funcionamiento del programa, pues su funcionalidad es lo que aquí importa.

3.2.2 APBS

Adaptive Poisson-Boltzmann Solver, más conocido por su sigla APBS, es un código escrito en C que permite calcular distintos tipos de energías en un sistema molécula o macromolécula - solvente. De particular interés resulta en este caso la energía de solvatación¹ de una molécula o macromolécula. El programa emplea el método FEM para parcelar un dominio de integración en $l \times m \times n$ elementos, resolviendo el sistema de ecuaciones con teoría electrostática clásica, es decir considerando una descripción macroscópica del problema. Ahora bien, la gracia de este software es la capacidad de resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann para una concentración, carga y radio de iones solicitados. El programa realiza el cálculo energético de la molécula o macromolécula en dos situaciones: en el solvente, ya en su situación final (con o sin distribución de Boltzmann, según se requiera), y en un punto de referencia que corresponde a los átomos que conforman a la (macro)molécula en un dieléctrico correspondiente a la permitividad de dicha (macro)molécula. Luego, las energías se restan, lo que corresponde a la energía de solvatación, siguiendo su definición, del cuerpo bajo estudio. APBS tiene gran fama de ser confiable y con una rapidez de cómputo relativamente alta, esto último en especial en comparación con programas de dinámica molecular (MD) como CHARMM o LAMMPS, pero debido al método de modelación que utiliza, puede ser problemático representar secciones de una molécula que tengan interacciones que requieran una alta refinación de la malla, como por ejemplo en el caso en que un ion pase por un canal iónico, pues las energías dependen de la distancia ion - proteína y la geometría de la proteína. Esto no quita que el programa sea altamente confiable, y es por eso y por la formulación en electrostática en continuos que emplea que se utiliza como referencia para comparar resultados.

¹Véase Anexo

3.2.3 APBSmem

APBSmem es el gran programa de cálculos energéticos en sistemas proteína - membrana con teoría electrostática en continuos. Funciona de la misma forma que APBS (de hecho APBSmem solo llama a APBS con dos grupos de archivos distintos, uno pre y uno pos consideración de la membrana) y facilita el trabajo a usuarios con poco conocimiento computacional a través de una interfaz gráfica.

Este software escrito en Java funciona siguiendo una serie de pasos, en función de parámetros indicados por el usuario:

1. Generar mapas de permitividades ϵ , radios de Debye o accesibilidad iónica κ , y densidad de carga ρ para una proteína en disolución.
2. Utilizar esos mapas con el programa APBS base para calcular la energía de solvatación de una proteína en disolución.
3. Generar un nuevo set de mapas de las propiedades en 1., pero esta vez tomando en cuenta la inclusión de la membrana según parámetros indicados por el usuario.
4. Correr nuevamente APBS para obtener la energía de solvatación de la proteína inserta en la membrana.
5. Restar las energías de 4. y 2., entregando esta resta para indicar la afinidad de la proteína con la membrana y el resto del entorno.

APBSmem entrega la energía total de la proteína embebida en la membrana, que en caso de ser un estado de mínima energía constituye el estado más probable del sistema. En resumen, si el resultado entregado por APBSmem es < 0 , la proteína tiene más probabilidades de estar inserta en la membrana que en la solución salina original, y viceversa.

Para poder comparar los resultados presentados más adelante con los de APBSmem y APBS,

es necesario sumar las energías de solvatación entregadas por estos últimos dos programas de modo de obtener la energía de solvatación del sistema membrana - proteína.

3.2.4 PyGBe

Python, GPUs and Boundary elements for biomolecular electrostatics (PyGBe) es una biblioteca de `Python` que permite, entre otras cosas, calcular energías de solvatación en macromoléculas. El programa utiliza el Fast Multipole Method junto con un algoritmo de tipo treecode para desarrollar cálculos, y además si estos son muy demandantes, pueden llevarse a cabo en GPU en vez de en CPU. Este trabajo se llevó a cabo en una versión básica de PyGBe que no incluye el uso de GPUs, el uso de un algoritmo treecode ni el método de multipolos rápidos. Sin embargo, el resultado es el mismo, pues las características de las que carece son métodos de aceleración y no modifican la solución. La versión de `pygbe` utilizada forma y resuelve un sistema de ecuaciones mediante la generación de una matriz \underline{A} , y es esto se modifica, como se explica en otra sección más adelante.

PyGBe funciona leyendo una serie de archivos. Los inputs del programa son un `.config` y un `.param`. Además, el primero de estos dos archivos hace referencia a otro par de archivos, `.face` y `.vert`, así como a un `.pqr` o `.crd`. En primera instancia se profundiza en qué son estos archivos, y luego se presenta y desarrolla la estructura funcional de PyGBe (`pygbe_matrix` específicamente).

El archivo `.config` que sirve como entrada directa al programa consta de una serie de parámetros que son principalmente pertinentes a las características físicas del modelo. Se trabaja en una estructura de campos, siendo cada uno representativo de uno de los dominios de integración. Siempre habrá un `FIELD` que representa el solvente, designado con el número 0, y los campos consecutivos listan las propiedades de los otros medios a considerar. Esto permite modelar casos en los que la proteína se plegó sobre sí misma dejando solvente

encerrado en pequeños huecos o cavidades. Además este set de parámetros sirve de puntero para los archivos que entregan información sobre las cargas (`.pqr` o `.crd`) y sobre la geometría del problema (`.face` y `.vert`).

El archivo `.config` tiene en cada una de sus líneas, que son los campos (FIELD), información sobre si el dominio debe ser tratado mediante la ecuación de Poisson o la de Poisson - Boltzmann, si se requiere el cómputo de energías en el medio, cuál es la permitividad ϵ de dicho medio y cuál es el inverso de la longitud de Debye. También se incluye información sobre si hay cargas en el medio y en qué archivo está la información al respecto, qué campo(s) hay al interior de cierto(s) FIELD(s) y cuáles al exterior, y cuáles son sus designaciones.

Los archivos `.face` y `.vert` son información sobre la superficie de la proteína. El primero de ambos documentos numera y ordena los paneles en los que se subdivide la interfaz molécula - solvente, mientras que el segundo entrega las posiciones espaciales de los vértices de dichos paneles triangulares. Los archivos `.pqr` y `.crd` son información sobre la ubicación, radios de van der Waals y carga neta de los átomos constituyentes de la molécula que se busca modelar.

El archivo `.param` por otro lado tiene información propia del método de modelación matemática del problema, aunque solamente se describen a continuación los que se utilizan en `pygbe_matrix`. Aquí van la precisión computacional (`double` o `float`), el número de puntos de cuadratura Gaussiana para tres tipos de resolución que se explicarán más a fondo en lo sucesivo, un parámetro que indica cuándo utilizar el método de resolución semianalítica (también se explica más adelante), el error relativo de máquina, y parámetros para el método de mínimos residuos general, como número máximo de iteraciones, iteraciones para el *reinicio* del método, y la tolerancia entre iteraciones tras la cual se acepta el resultado calculado.

Ahora se procede a explicar el funcionamiento del programa, pues este trabajo consiste en la modificación del mismo para integrar la capacidad de cálculo de interfaces por sobre y bajo la macromolécula.

PyGBe funciona siguiendo una serie de pasos para el cálculo de energías. En primer lugar, el programa lee los archivos `.config` y `.param` y guarda los parámetros correspondientes. Con esta información y la geometría importada (existe una función que se encarga de eliminar los paneles con áreas muy pequeñas, tendiendo a 0), la meta es crear un sistema como el $Ax = b$ que se cumpla para todos los paneles de la discretización. Se generan entonces dos sets de arreglos que corresponden a la clases definida como *superficie*, uno que guarda las fuentes (`src`) y otro que guarda los objetivos (`tar`). El programa calcula las interacciones electrostáticas entre todos los objetivos y todas las fuentes: para un panel arbitrario, todos los paneles del ensamblaje tienen influencia, incluyéndose a si mismo. Para generar la matriz del sistema, se requieren los single y double layer operators de cada panel para la ecuación por fuera y por dentro, y como son operadores integrales, se utiliza cuadratura Gaussiana para discretizarlos. Las denominadas fuentes son los puntos de cuadratura de Gauss, que representan el efecto del panel. Esto es, si los paneles objetivo están más allá de cierto rango con respecto a las fuentes. La información sobre qué operador se debe utilizar (Laplace o Yukawa) para cada `FIELD` viene del archivo `.config`, así como los parámetros físicos requeridos en cada ecuación (κ y ε , por ejemplo).

Para lograr esta discretización, los paneles lejanos se trabajan con pocos puntos de cuadratura, en vista de que su distancia hasta el panel de referencia es grande respecto del parámetro *threshold*. Para los paneles que están a una distancia inferior a este valor, pero aún no están suficientemente cerca, se utiliza simplemente una mayor densidad de puntos de cuadratura Gaussiana sobre la superficie y se procede a discretizar las integrales de la misma forma. Por último, para los casos en que los paneles objetivo están muy cerca de las fuentes, o el panel

fuente y el objetivo son el mismo, la cuadratura Gaussiana se reemplaza por un método semi-analítico que reduce la integral de área a una integral de línea, siendo esta última la que se discretiza, y solo sobre los bordes del triángulo; este método surge de la publicación de Zhu *et al.* [15].

Con los valores de los operadores ya calculados, se procede a generar la matriz \underline{A} del sistema, ubicando cada elemento V_L , K_L , V_Y y/o K_Y donde corresponda. El ordenamiento de la matriz incide en el lado derecho de la ecuación, por lo que también hay que organizar la ubicación de los elementos del vector solución para que corresponda al sistema físico que se busca modelar. Luego de generar un preconditionador para el sistema de ecuaciones, el código utiliza el método Generalized Minimal Residues (GMRES) para calcular el vector de incógnitas que tiene los valores de ϕ y $\partial/\partial\hat{n}(\phi)$ para todos los paneles. Este vector se le entrega a una función que toma los valores y calcula la energía de solvatación del sistema, aplicando una discretización con cuadratura Gaussiana al campo de reacción causado por la molécula sobre la superficie de esta última.

3.3 Implementación del método de imágenes en el programa PyGBe

El objetivo principal del trabajo aquí presentado es definir una forma de calcular la energía de solvatación de un átomo o molécula inserta entre dos interfaces, lo que tiene un simil biológico conocido en una proteína embebida en una membrana. Hay que recalcar que esta manera de representar las interfaces correspondientes a la membrana tiene dos restricciones importantes. En primer lugar, solo se puede aplicar a las cargas que se encuentran dentro de la membrana; para poder considerar proteínas transmembrana o similares hay que buscar otra forma de modelar. En segundo lugar, el modelo presentado y aplicado no permite incluir el efecto de iones en la disolución. Dicho de otra forma, se utiliza el método BEM para

trabajar una ecuación de Poisson en vez de una ecuación de Poisson-Boltzmann. Además de dichas restricciones, surge otra que en vista del enfoque continuo que se da a la formulación, no incide mucho, pero aún así es importante mencionar: la bicapa fosfolipídica, tal como se muestra en el apartado 2.6, no es exactamente continua, sino que hay separación entre los fosfolípidos y, más importante, entre las cabezas polares de éstos. Sin perjuicio de lo anterior, la implementación exitosa del método de imágenes supone un avance, pues permite comprobar la viabilidad de esta parte de la teoría de campos electromagnéticos como representación de una membrana.

Como se adelanta en la sección de descripción de los programas utilizados, PyGBE es modificado, añadiendo una opción que permite calcular la energía de solvatación de una molécula en un sistema conformado por un medio 1 encerrado por un medio 2 (Figura redtando). Antes de elaborar sobre la inclusión de esta opción al software, es imperativo ahondar en la teoría electrostática para este tipo de situaciones.

3.3.1 Modelo de un sistema de tres medios dieléctricos con dos interfaces

La presente sección se basa fundamentalmente en el desarrollo visto en la publicación de Yang, Liaw y Lim [7]. La teoría electrostática puede ser encontrada en el libro de Emile Durand [16], pero por lo que se sabe, el grupo de Yang es el único que ha utilizado esta teoría para representar una membrana con el método de imágenes.

En este paper se presenta una herramienta basada en el método de cargas imagen aplicado a sistemas rectangulares con más de una interfaz, denominado método RIC - Rectangular Image Charge. Un sistema de una interfaz planar infinita tiene una solución analítica para el caso de una carga puntual, pero si se considera el caso de un sistema con dos interfaces planares paralelas y una carga puntual en el medio dieléctrico encerrado, el problema se complica.

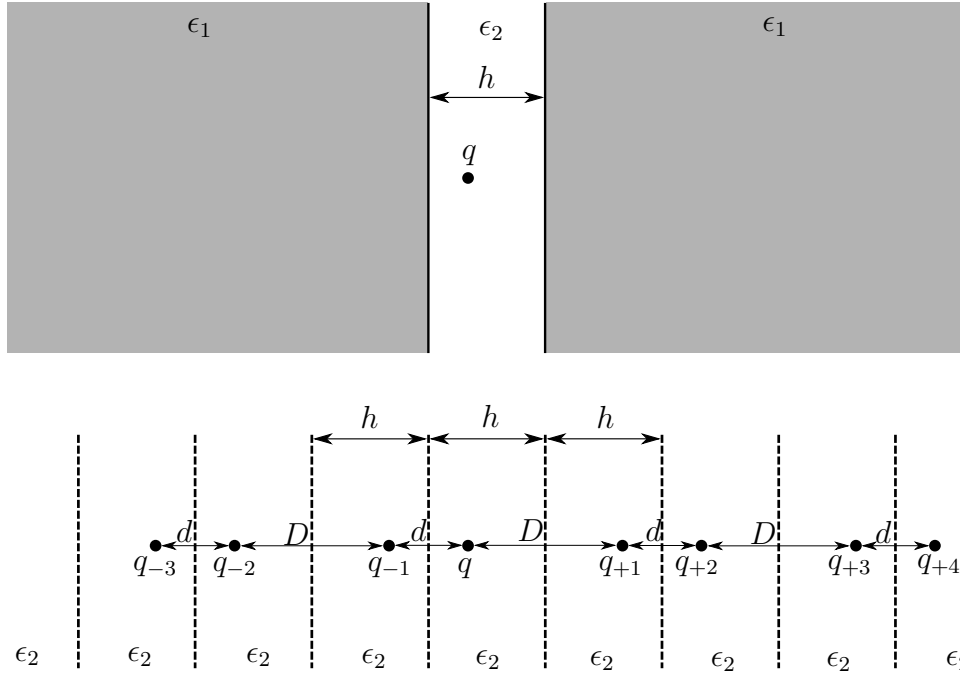


Figura 3.1: La imagen superior es la situación real para el caso de una carga, mientras que la figura inferior es el sistema trabajado con el método de imágenes. Esto sigue de manera infinita, pero solo se muestran unas pocas cargas por motivos obvios.

Si se tienen tres medios dieléctricos 1, 2 y 3, tales que las constantes dieléctricas de los medios 1 y 3 son iguales entre sí $\epsilon_1 = \epsilon_3$ (Fig. 4), entonces una carga en el medio 2 genera un campo de reacción en los medios 1 y 3, y cada uno de estos induce una reacción en los otros medios. Se genera así un efecto cascada, lo que se traduce en una sumatoria infinita [7] como se ve a continuación

$$\phi(\mathbf{r}) = \sum_{i=-\infty}^{\infty} \frac{q_i}{4\pi\epsilon_2|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i|} \quad (3.3.1)$$

donde

$$q_i = q \left(\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_1 + \epsilon_2} \right)^{|i|} \quad x_i = (-1)^i x_0 + i \cdot a \quad \mathbf{r}_i = (x_i, y, z) \quad (3.3.2)$$

Cada término de la sumatoria es menor al anterior en magnitud, tendiendo a converger de

forma relativamente rápida.

Una analogía de este fenómeno y que también tiene que ver con electromagnetismo es lo que ocurre al mirar hacia uno de dos espejos paralelos enfrentados. La imagen de uno se refleja infinitamente en el otro, disminuyendo en tamaño con cada reflejo.

Considerar un número mayor de cargas (N_q) simplemente implica sumar sobre estas, considerando el potencial debido a la interacción electrostática entre las partículas componentes del sistema, pues la sumatoria entre $-\infty$ e ∞ da cuenta del campo de reacción, haciendo que la Ec. (29) quede

$$\phi(\mathbf{r}) = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^{N_q} \frac{q_j}{4\pi\epsilon_2|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j|} + \sum_{j=1}^{N_q} \sum_{\substack{i=-\infty \\ i \neq 0}}^{\infty} \frac{q_{j,i}}{4\pi\epsilon_2|\mathbf{r} - \mathbf{r}_{j,i}|} \quad ; \quad \mathbf{r} \neq \mathbf{r}_j \quad ; \quad \mathbf{r} \neq \mathbf{r}_{j,i} \quad (3.3.3)$$

En este caso, $\mathbf{r}_{j,i}$ corresponde a la posición de la i -ésima imagen de la j -ésima carga del arreglo de cargas. Así también se define $q_{j,i}$ como la i -ésima imagen de la j -ésima carga del arreglo. El primer término es el potencial en algún punto debido a las cargas, que debería resultar familiar. El segundo término corresponde al efecto del campo de reacción a causa del conjunto de cargas.

Lo que nos interesa es el segundo término, pues el primero ya ha sido implementado en el programa previamente. Con esto podemos modelar la reacción de los medios por fuera de las interfases de la membrana o, mejor dicho, el comportamiento de estos debido a la presencia de las cargas de la proteína. El método BEM exige, a través de sus operadores integrales Single y Double Layer Potential, que haya una función de Green que modele el comportamiento del potencial de una carga (por ende la carga q debe ser unitaria), así como la derivada de dicha función. Por lo tanto, a continuación se presentan estos dos operadores que se utilizan en la modelación de la membrana. Los operadores se denominan a contin-

uación con el subíndice R , debido a que el método de la publicación de Yang *et al.* se llama RIC.

$$V_R(\phi(\mathbf{r})) = \int_{\partial\Omega} \phi(\mathbf{r}) \frac{1}{4\pi\epsilon_m} \sum_{i=-\infty}^{\infty} \frac{q_i}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}^*|} d\partial\Omega \quad (3.3.4)$$

$$K_R(\phi(\mathbf{r})) = \int_{\partial\Omega} \phi(\mathbf{r}) \frac{1}{4\pi\epsilon_m} \sum_{i=-\infty}^{\infty} q_i \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \left(\frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i^*|} \right) d\partial\Omega \quad (3.3.5)$$

Los términos q_i y \mathbf{r}_i^* retienen las definiciones de **metodo RIC**, y siguen siendo válidas para cada panel, tal como sucedía con los operadores de la sección **LAPLACE y YUKAWA**. Se puede apreciar que la complejidad no está en la formulación, puesto que los operadores del método de imágenes son simplemente una suma lineal de operadores Single y Double Layer Potential de Laplace. El obstáculo reside en la sumatoria infinita, que demanda muchos recursos computacionales, pues como se explica en los siguientes párrafos, cada punto de cuadratura tiene n imágenes por arriba y por abajo, lo que da un total de $2n + 1$ imágenes.

3.3.2 El método BEM y PyGBe con inclusión del efecto de la membrana

El método de imágenes presentado permite dar cuenta del efecto de dos interfaces de forma implícita, y esa es su gran fortaleza, pues no se requiere una discretización de las interfaces membrana - solvente. En vez de eso, se reproduce el efecto de los campos de reacción debido a los paneles de la proteína al modificar las funciones de Green de los operadores Single y Double Layer Potential. Ahora se ve más detalladamente cómo se trabaja este tipo de sistema de forma numérica.

Se debe considerar que el método de imágenes como se aplica en este caso considera que la molécula a modelar siempre está encerrada por dos interfaces paralelas ubicadas en planos $z = \pm z_0$. Con esto claro, se procede a explicar cómo se trabaja matemáticamente con BEM.

Se tienen las ecuaciones por fuera y por dentro de la interfaz de la molécula y dentro de la membrana; la de afuera lleva implícitamente el aporte del campo de reacción del solvente. El sistema de ecuaciones para una molécula embebida en una membrana de espesor a , permitividades de membrana ϵ_m , de proteína ϵ_p y de solvente (agua) ϵ_w es

$$\begin{aligned} \frac{\phi_1(\mathbf{r})}{2} + \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi_1(\mathbf{r}) \sum_{i=-n}^n \frac{q_i}{4\pi|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i^*|} d\partial\Omega \\ - \int_{\partial\Omega} \phi_1(\mathbf{r}) \cdot \sum_{i=-n}^n \frac{q_i}{4\pi} \nabla \left(\frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i^*|} \right) \cdot \hat{\mathbf{n}} d\partial\Omega = 0 \end{aligned} \quad (3.3.6)$$

$$\begin{aligned} \frac{\phi_2(\mathbf{r})}{2} - \int_{\partial\Omega} \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi_2(\mathbf{r}) \cdot \frac{1}{4\pi|\mathbf{r} - \mathbf{r}^*|} d\partial\Omega \\ + \int_{\partial\Omega} \phi_2(\mathbf{r}) \cdot \nabla \left(\frac{1}{4\pi|\mathbf{r} - \mathbf{r}^*|} \right) \cdot \hat{\mathbf{n}} d\partial\Omega = \frac{1}{4\pi\epsilon_p} \sum_{j=1}^{N_q} \frac{q_j}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j|} \end{aligned} \quad (3.3.7)$$

reteniendo su definición los términos siguientes

$$q_i = q \left(\frac{\epsilon_p - \epsilon_m}{\epsilon_p + \epsilon_m} \right)^{|i|} \quad z_i = (-1)^i z_0 + i \cdot a \quad \mathbf{r}_i = (x, y, z_i)$$

Aplicando las condiciones de contorno de electrostática - continuidad del potencial y el salto en la componente normal del campo eléctrico (Ecs. (2.4.1, 2.4.2)) - el sistema de ecuaciones se puede llevar a uno con incógnitas en términos de un único ϕ y su derivada $\partial/\partial \hat{\mathbf{n}}(\phi)$. Utilizando la notación de los operadores para el método de imágenes (3.3.4, 3.3.5) y los de Laplace (**HAY QUE AGREGAR EXPLICITAMENTE LOS OPERADORES PARA LAPLACE**), se obtiene la BIE para la situación estudiada

$$\frac{\phi_2(\mathbf{r})}{2} + K_L(\phi_2(\mathbf{r})) - V_L \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi_2(\mathbf{r}) \right) = \frac{1}{4\pi\epsilon_p} \sum_{j=1}^{N_q} \frac{q_j}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j|} \quad (3.3.8)$$

$$\frac{\phi_2(\mathbf{r})}{2} - K_R(\phi_2(\mathbf{r})) + \frac{\epsilon_2}{\epsilon_1} V_R \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi_2(\mathbf{r}) \right) = 0 \quad (3.3.9)$$

Estas ecuaciones están siendo aplicadas sobre la superficie de la molécula, en este trabajo de carácter Solvent Excluded. Para resolver de forma numérica, la SES se subdivide en N paneles triangulares y las Ecuaciones 3.3.6 y 3.3.7 son colocadas en el centroide de cada panel. Las variables dependientes desconocidas están dentro de la integral, por lo que para resolver el sistema se asume que $\phi(\mathbf{r})$ y $\partial_{\hat{\mathbf{n}}}\phi(\mathbf{r})$ son constantes, permitiendo sacarlas de las integrales correspondientes; como toda la formulación se realiza sobre la interfaz, se necesita calcular la interacción de la superficie de la molécula consigo misma². Omitiendo el subíndice 2, para un panel de referencia v , la interacción con cada uno de los $N - 1$ paneles restantes (aquí con subíndice w), y consigo mismo se muestra a continuación

$$\begin{aligned} \frac{\phi(\mathbf{r}_v)}{2} + \phi(\mathbf{r}_v) \sum_{w=0}^N \int_{\partial\Omega_v} \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G_L(\mathbf{r}_v, \mathbf{r}_w) \right) d\partial\Omega_v \\ - \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi(\mathbf{r}_v) \right) \sum_{w=0}^N \int_{\partial\Omega_v} G_L(\mathbf{r}_v, \mathbf{r}_w) d\partial\Omega_v = \frac{1}{4\pi\epsilon_p} \sum_{j=1}^{N_q} \frac{q_j}{|\mathbf{r}_v - \mathbf{r}_j|} \end{aligned} \quad (3.3.10)$$

$$\begin{aligned} \frac{\phi(\mathbf{r}_v)}{2} + \phi(\mathbf{r}_v) \sum_{w=0}^N \int_{\partial\Omega_v} \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} G_R(\mathbf{r}_v, \mathbf{r}_w) \right) d\partial\Omega_v \\ - \left(\frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi(\mathbf{r}_v) \right) \sum_{w=0}^N \int_{\partial\Omega_v} G_R(\mathbf{r}_v, \mathbf{r}_w) d\partial\Omega_v = 0 \end{aligned} \quad (3.3.11)$$

Como esta ecuación resuelve el sistema para un panel, y la superficie discretizada se compone de N paneles, la forma matricial del sistema de ecuaciones que rige para todos los paneles queda

$$\begin{bmatrix} \frac{\mathbb{I}}{2} + K_L & -V_L \\ \frac{\mathbb{I}}{2} - K_R & V_R \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \phi \\ \frac{\partial}{\partial \hat{\mathbf{n}}} \phi \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{1}{4\pi\epsilon_p} \sum_{j=1}^{N_q} \frac{q_j}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j|} \\ 0 \end{bmatrix} \quad (3.3.12)$$

El cálculo de los Single y Double Layer Potentials requiere la discretización del panel para el cómputo numérico de las integrales, lo que supone en este caso distribuir K_G puntos de Gauss sobre dicho panel para calcular los valores de los integrandos en dichos puntos; K_G varía según si se consideran paneles lejanos, cercanos, o cuando corresponde usar un método

²En casos en que haya más de una superficie, es necesario calcular las combinaciones entre todas ellas.

semianalítico.

$$V_{v,w} = A_v \cdot \sum_{k=1}^{K_G} \sum_{i=-n}^n \frac{\omega_k \cdot q_i}{4\pi |\mathbf{r}_w - \mathbf{r}_{v,k,i}^*|} \quad (3.3.13)$$

$$\begin{aligned} K_{v,w} &= A_v \cdot \sum_{k=1}^{K_G} \sum_{i=-n}^n \nabla \left(\frac{\omega_k \cdot q_i}{4\pi |\mathbf{r}_w - \mathbf{r}_{v,k,i}^*|} \right) \cdot \hat{\mathbf{n}} \\ &= A_v \cdot \sum_{k=1}^{K_G} \sum_{i=-n}^n \frac{\omega_k \cdot q_i}{4\pi} \cdot \nabla \left(\frac{1}{|\mathbf{r}_w - \mathbf{r}_{v,k,i}^*|} \right) \cdot \hat{\mathbf{n}} \end{aligned} \quad (3.3.14)$$

Aquí, ω_k son los pesos de la cuadratura Gaussiana, q_i retiene su definición de **ecuación algo** con carga $q = 1$, $\mathbf{r}_{v,k,i}^*$ es la posición de la i -ésima imagen del k -ésimo punto del panel v , y A_v es el área de dicho panel.

Lo anterior aplica para el panel v, w , por lo que cada término en la matriz del sistema 3.3.12 tiene dimensiones de la cantidad de paneles objetivo \times cantidad de paneles fuente. El método empleado funciona bien cuando los paneles objetivo están a una cierta distancia del panel fuente; en general, estando a más de $10^{-10}[\text{\AA}]$, no se tienen problemas. Esto es, para paneles *lejanos*, se utilizan pocos puntos de cuadratura, para paneles bajo cierto umbral pero que aún no están bajo los mencionados $10^{-10}[\text{\AA}]$, simplemente se aumenta la densidad de puntos.

Distinto es el caso del panel propio, que requiere la mencionada integración semianalítica, pues las distancias serían muy pequeñas entre los puntos de cuadratura y el centro del panel (distancia $\text{tar} - \text{src}$), y el denominador de las funciones de Green se volvería prácticamente cero. Esta forma de integración se utiliza, en el caso del método de imágenes, para el término 0 del contador, pues todos los demás están al menos a una distancia $(a - z_0)$ con respecto al punto de cuadratura; z_0 es la tercera coordenada del punto de cuadratura.

El método que se utiliza para integrar de forma semianalítica consiste en tomar un punto fuera del panel, que en este caso es la proyección del punto de colocación sobre el plano

del panel, y solo variar el ángulo de integración para recorrer cada uno de los tres lados del triángulo, como se muestra a continuación en la Figura **FIGURA tanto**.

El radio se compone así de la suma $H + |\mathbf{r}_\theta|$, donde H es la distancia normal entre el punto de colocación y el plano de proyección, y \mathbf{r}_θ es la distancia entre dicha proyección y el lado del triángulo que se está calculando. La integral de línea que queda es discretizada con cuadratura de Gauss. Los operadores Single y Double Layer para el panel singular son, para el caso de Laplace, los siguientes

$$V_L = \sum_{\text{lados}} \sum_{k=1}^{K_G} \omega_k \cdot (|\mathbf{r}(\theta_k)| - |H|) \cdot \frac{\theta}{2} \quad (3.3.15)$$

$$K_L = \sum_{\text{lados}} \sum_{k=1}^{K_G} \omega_k \cdot \left(\frac{H}{|\mathbf{r}(\theta_k)|} \right) - \text{sign}(H) \cdot \frac{\theta}{2} \quad (3.3.16)$$

Se tienen así los valores, calculados numéricamente, de los Single y Double Layer Potentials en todos los paneles para una (macro)molécula embebida en una membrana con solvente fuera. El siguiente paso es proceder a formar la matriz del sistema de ecuaciones y proseguir con la secuencia de la Sección **PB y BEM**.

La inclusión del método de imágenes para cálculos con membrana en PyGBe significó la modificación de una serie de archivos para permitir al programa leer las propiedades de la bicapa (espesor y permitividad), seleccionar el tipo de cálculo que se requiere (PB o método de imágenes), y el número de imágenes en el método, entre otros. Esto recae más en el ámbito computacional, y no se considera que requiera más énfasis que una mención rápida como la anterior. Se procede por tanto a presentar los resultados del método y lo relativo a la labor de cómputo realizada, reiterando los dos objetivos correspondientes a esta sección que se aspiran a cumplir.

Capítulo 4

Resultados

En primer lugar se recuerda que la meta de todo este trabajo es simular energías de solvatación de proteínas embebidas en membranas, analizando tres casos simples y contrastando resultados con un programa ampliamente aceptado y usado (APBS y APBSmem), tanto en términos de precisión del cálculo como en tiempo de cómputo requerido. Los tres casos simples son un ion de carga unitaria, un arreglo de tres iones, también de carga unitaria, uno de ellos de radio tal que encierra a los otros, y el tercer caso es una molécula de bromoetano.

4.1 Cálculo numérico de las energías

Las pruebas se realizaron con una membrana de espesor $a = 20\text{\AA}$, con una de las dos interfaces ubicada en el plano $z = -10$ respecto del origen $(0, 0, 0)$ en coordenadas cartesianas. Las permitividades se presentan en la Tabla 1, a continuación

Tabla 4.1: Permitividades de los tres medios trabajados

$\varepsilon_m = 2$	$\varepsilon_p = 4$	$\varepsilon_w = 80$
---------------------	---------------------	----------------------

Las permitividades están adimensionalizadas, su valor siendo el descrito en el apartado **donde se habla de permitividad relativa**. Los subíndices son, respectivamente de izquierda a

derecha, indicadores de *membrane* (membrana), *protein* (proteína) y *water* (agua).

Los cálculos se realizan para tres densidades de malla, para los tres casos de prueba, y para los dos programas - PyGBe y APBSmem.

4.1.1 Resultados mediante PyGBe

4.1.2 Resultados mediante APBS - APBSmem

4.2 Extrapolación de Richardson y error relativo

Para poder comprobar de manera fehaciente que utilizar el método de imágenes acoplado a PyGBe es un método válido de simular una proteína embebida en una membrana, se utiliza una extrapolación de Richardson para comparar los cálculos. La extrapolación de Richardson es una herramienta que permite, como indica el nombre, realizar una extrapolación mediante tres puntos para obtener el valor “límite” teórico al que se llegaría si la malla se afinara consecutivamente a una tasa constante. Es por esta razón que todos los cálculos realizados previamente presentan una razón de densificación constante. La fórmula para obtener el resultado teórico extrapolado es

$$G_t = \frac{G_1 \cdot G_3 - (G_2)^2}{G_1 - 2G_2 + G_3} \quad (4.2.1)$$

Para esto se debe cumplir que $G_2 : G_1 = G_3 : G_2$. Con este método aclarado es que se presentan los resultados extrapolados para cada uno de los tres casos de estudio, así como también una comparación porcentual entre los resultados teóricos obtenidos mediante PyGBe y APBS - APBSmem.

Capítulo 5

Conclusiones

Durante el aprendizaje que conlleva el presente trabajo se logra afianzar el conocimiento sobre la teoría electrostática, así como también familiarizarse con la ecuación de Poisson-Boltzman (a través de las lecturas pertinentes al tema), de dónde surge y todo lo que representa. Ya se señaló en un principio que la idea principal de este escrito es presentar la base teórica para poder implementar BEM, y en primera instancia eso se logra para un medio homogéneo, pues ya se cuenta con una expresión para el potencial en función de las variables de interés del problema.

En este informe se aclara por qué es posible utilizar la teoría electrostática macroscópica para describir fenómenos a nivel molecular, dando paso a la explicación y aplicación del método de imágenes para resolver un sistema simple de una carga y una interfaz planar. Con la introducción y resolución de la teoría y el problema tipo del método de imágenes respectivamente, se procede a la implementación del método RIC. Mediante esta última herramienta se pueden trabajar sistemas de múltiples cargas en un medio encerrado por dos interfaces a través de cargas imágenes que representen el campo de reacción de los medios. Gracias a un pequeño programa es que se logra definir un número conveniente para representar el valor de ∞ en los límites de la sumatoria para el caso de una sola carga encerrada.

5.1 Continuación del trabajo

A continuación se plantea cómo seguir con este trabajo a partir de los fundamentos establecidos en el presente texto, pues la idea es hacer uso de la teoría incluida aquí para entregar un aporte, particularmente buscando una mejora en la velocidad de cálculo.

Teniendo ya definida la temática y la materia cubierta en este informe, lo que queda es hacer uso de la teoría de una forma útil y eficiente. En la sección introductoria se mencionó el método de elementos de borde BEM. Pues bien, para dar continuidad a esta línea de investigación, se busca implementar dicho método a un sistema como el visto en el apartado 3.

El objetivo ideal que se plantea es establecer una forma de modelar computacionalmente una representación de una proteína sometida a interacciones electrostáticas mientras está inserta en la membrana, y en determinar también si el aporte de dicha membrana es realmente significativo o se puede despreciar, y en qué casos es correcto hacerlo.

También hay otros puntos de investigación, como simular una o un sistema de cargas fuera de la membrana. Esto abriría la posibilidad de trabajar con proteínas transmembrana sin tener que cambiar de forma significativa el planteamiento del problema. Además puede ser que si se continúa con esta línea de investigación, surjan otras aristas que valga la pena explorar y sean de interés.

Cerrando las ideas, se puede decir que el trabajo presentado en este informe consiste en adquirir conocimientos base e información sobre otros trabajos relacionados con el tema. Esto se hace para poder avanzar en lo sucesivo con el desarrollo de nuevas propuestas que permitan acelerar los cálculos energéticos de la interacción electrostática en sistemas de múltiples cargas. Queda pendiente familiarizarse con el método BEM, para poder así juntar todo en un trabajo final que englobe la teoría electrostática aplicada a interacciones molecu-

lares de proteínas en la membrana mediante el método de elementos de borde.

Bibliography

- [1] Jackson, J. D. *Classical Electrodynamics*, Third Edition; Wiley, 1998
- [2] Griffiths, D. J. *Introduction to Electrodynamics*, Third Edition; Prentice Hall, 1999
- [3] Kantorovich, L. *Quantum Theory of the Solid State: An Introduction*, First Edition; Springer, 2004
- [4] Cai, W. *Computational Methods for Electromagnetic Phenomena*, First Edition; Cambridge University Press, 2013
- [5] Brebbia, C. A.; Dominguez J. *Boundary Elements: An Introductory Course*, Second Edition; WIT Press, 1992
- [6] Cooper, C. *Biomolecular Electrostatics With Continuum Models: A Boundary Integral Implementation and Applications to Biosensors*, 2015
- [7] Yang, P.; Liaw, S.; Lim, C. *Representing an Infinite Solvent System with a Rectangular Finite System Using Image Charges*, J. Phys. Chem. B 2002, 106, 2973-2982
- [8] Callenberg, K. M.; Choudhary, O. P.; de Forest, G. L.; Gohara, D. W.; Baker, N. A.; Grabe, M. *APBSmem: A Graphical Interface for Electrostatic Calculations at the Membrane*, PLoS ONE 5(9), 2010
- [9] Lin, H.; Xu, Z.; Tang, H.; Cai, W. *Image Approximations to Electrostatic Potentials in Layered Electrolytes/Dielectrics and an Ion-Channel Model*, J. Sci. Comput., 2011

-
- [10] Cai, W.; Deng, S.; Jacobs, D. *Extending the fast multipole method to charges inside or outside a dielectric sphere* J. Comput. Phys. 223, 2007
 - [11] Gan, Z.; Xu, Z. *Multiple-image treatment of induced charges in Monte Carlo simulations of electrolytes near a spherical dielectric interface* Phys. Rev. E 84, 016705, 2011
 - [12] Roux, B. *Influence of the Membrane Potential on the Free Energy of an Intrinsic Protein* Biophysical Journal, Vol. 73, 2980-2989, 1997
 - [13] Campbell, N.; Reece, J. *Biología*, Séptima Edición, Editorial Médica Panamericana, 2007
 - [14] Lombard, J. *Once upon a time the cell membranes: 175 years of cell boundary research* Biology Direct 9:32, 2014
 - [15] Zhenhai, Z.; Jingfang, H.; Song, B.; White, J. *Improving the Robustness of a Surface Integral Formulation for Wideband Impedance Extraction of 3D Structures* IEEE/ACM International Conference on Computer Aided Design. 592-597, 2001
 - [16] Durand, E. *Électrostatique Vol. III Méthodes de Calcul Diélectriques* Masson et Cie.; 1966