

Артур ГУСЛІСТИЙ

Scopus ID: 57204956669

e-mail: aguslisty@gmail.com

Центр сімейної медицини "Амедика", Одеса, Україна

Олексій ХОРОЛЬСЬКИЙ, канд. фіз.-мат. наук, доц.

Scopus: ID 56667613000

e-mail: khorolskiy.alexey@gmail.com

Полтавський національний педагогічний університет
імені В. Г. Короленка, Полтава, Україна

МАТЕМАТИЧНА МОДЕЛЬ ЗАЛЕЖНОСТІ ДЗЕТА-ПОТЕНЦІАЛУ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ ЛЮДИНИ ВІД pH ФІЗІОЛОГІЧНОГО РОЗЧИНУ

Вступ. Робота присвячена побудові математичної моделі залежності дзета-потенціалу макромолекули сироваткового альбуміну людини в 0,15 М водному розчині хлориду натрію (фізіологічний розчин) як функції зміни водневого показника pH (кисотно-лужного балансу) водного оточення.

Методи. Проаналізовано асиметричність зазначеної експериментальної залежності відносно ізоелектричної точки альбуміну pH_0 5,1, за якої дзета-потенціал макромолекули дорівнює нулю.

Результати. Запропонована математична модель, яка передбачає розбиття pH діапазону залежності дзета-потенціалу макромолекули сироваткового альбуміну людини у фізіологічному розчині як функції водневого показника pH на дві області: 1) в інтервалі значень $pH < pH_0$ для апроксимації застосована експоненційна функція; 2) в інтервалі значень $pH > pH_0$ експериментальна залежність апроксимована функцією гіперболічного тангенса. У межах похибки експерименту величини дзета-потенціалу, обчислені за допомогою запропонованої математичної моделі, добре корелюють з експериментальними значеннями: середня відносна похибка оцінена менше 5,5 % за $pH < pH_0$ та не перевищила 4,1 % за $pH > pH_0$.

Висновки. Отримані результати можуть бути використані для створення фізичної моделі, яка пов'язувала б просторову структуру та електрофізичні властивості макромолекули альбуміну при зміні водневого показника pH водного оточення.

Ключові слова: математична модель, альбумін, дзета-потенціал, pH, фізіологічний розчин.

Вступ

Виконання транспортної функції сироватковим альбуміном людини передбачає зміну структури протеїну у водному розчині залежно від температури, концентрації, кислотно-основної рівноваги (pH) середовища, наявності солей тощо. При потраплянні альбуміну у водно-сольовий розчин за фізіологічних значень pH відбувається взаємодія молекул води і солей з бічними ділянками амінокислотних залишків макромолекули: а) аспарагінова та глутамінова кислоти стають негативно зарядженими, б) аргінін, лізин і гістидин набувають позитивного заряду. Протилежні заряди утворюються за рахунок втрати або

© Гуслістий Артур, Хорольський Олексій, 2024

приєднання іонів водню від карбоксильних груп ($-\text{COOH}$) та аміногруп ($-\text{NH}_2$) вказаних амінокислот, унаслідок чого відбувається перерозподіл електричних зарядів на поверхні макромолекули та у розчині. Навколо молекули виникає хмара позитивних і негативних зарядів, що шарами замінюють один одного – утворюється подвійний електричний шар, який повністю екранує заряд молекули. Зі зміною показника рН у розчині змінюються і заряди амінокислотних залишків макромолекул, а отже, і загальний заряд макромолекул альбуміну: за кислотних рН загальний заряд позитивний, за основних рН – негативний. Перерозподіл зарядів на поверхні макромолекули приводить до зміни просторової структури макромолекули та сприяє процесам олігомеризації макромолекул альбуміну (Barbosa et al., 2010; Bhattacharya et al., 2014).

Хоча дослідженню структури альбуміну у водних розчинах присвячено значну кількість робіт, проте ефективна модель зв'язку структури та електрофізичних властивостей макромолекули альбуміну зі зміною рН водних розчинів наразі відсутня (Bukackova, Rusnok, & Marsalek, 2018).

Метою роботи є спроба побудови математичної моделі, яка б відтворювала поведінку дзета-потенціалу макромолекул сироваткового альбуміну людини у фізіологічному розчині зі зміною показника рН середовища.

Методи

Експериментальні дані залежності дзета-потенціалу макромолекул сироваткового альбуміну людини від показника рН водних розчинів хлориду натрію взято з роботи (Jachimska, Wasilewska, & Adamczyk, 2008, p. 6870). Автори роботи використали кристалізований і ліофілізований порошок сироваткового альбуміну людини (Sigma, 99 %) без додаткового очищення. Для приготування 0,15 М (0,9 мас. %) водного розчину хлориду натрію (фізіологічний розчин) у діапазоні рН від 2,5 до 10,5 використано двічі дистильовану воду, NaCl, HCl та NaOH (Sigma, Aldrich). Дзета-потенціал макромолекул альбуміну виміряно за допомогою Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical, Великобританія) за температури $T = (298,0 \pm 0,1)$ К, використовуючи метод лазерної доплерівської велосиметрії (Jachimska, Wasilewska, & Adamczyk, 2008, p. 6867). Відносні похибки вимірювання дзета-потенціалу та показника рН ми оцінили як рівні: $\varepsilon(\zeta) = 5\%$ і $\varepsilon(\text{pH}) = 0,5\%$, відповідно. Для досягнення поставленої мети у роботі застосовані методи математичного моделювання.

Результати

Дзета-потенціал (ζ) як різниця потенціалів водного середовища та нерухомого шару рідини, що оточує макромолекулу, може бути вимірний експериментально і дозволяє зробити висновки про загальний заряд макромолекул у розчині. Однією з особливостей залежності дзета-потенціалу макромолекул сироваткового альбуміну людини у розчині від показника рН середовища є існування характерної точки – ізоелектричної точки альбуміну, у якій дзета-потенціал альбуміну (і загальний заряд макромолекули) дорівнює нулю. Ізоелектричну точку альбуміну за pH_0 5,1 природно взяти реперною точкою (точкою відліку) досліджуваної залежності.

Як видно з рис. 1, характер залежності дзета-потенціалу від рН зазнає змін за pH_0 5,1 і не симетричний відносно ізоелектричної точки. Для наочної демонстрації сказаного візьмемо будь-яке експериментальне значення дзета-потенціалу макромолекули альбуміну на графіку залежності $\zeta = \zeta_{alb}(pH)$: наприклад, $\zeta_A = +29$ мВ за рН 2,7. Прямая, проведена через цю точку $A(+29; 2,7)$ та ізоелектричну точку альбуміну, перетне графік залежності в точці B , де $\zeta_B = -13$ мВ за рН 6,1, тобто бачимо, що

$$\zeta_A(pH_A) \neq -\zeta_B(pH_B). \quad (1)$$

Отже, дійсно характер залежності $\zeta = \zeta_{alb}(pH)$ асиметричний. Визначимо ступінь асиметричності цієї залежності:

$$Asym(\zeta) = (\zeta_A - \zeta_B) / \zeta_A, \quad (2)$$

звідки отримуємо $Asym(\zeta) = 0,55$. Нехай $x = pH - pH_0$, тоді рівняння $\zeta_A(x) \neq -\zeta_B(-x)$ буде описувати асиметричність кривої залежності $\zeta = \zeta_{alb}(pH)$.

Після попереднього аналізу рис. 1 для апроксимації експериментальних результатів залежності $\zeta = \zeta_{alb}(pH)$ з урахуванням χ^2 -критерію були обрані функції вигляду

$$\zeta = \zeta_0(\exp(x) - 1), \quad (3)$$

$$\zeta = \zeta_0 \tanh(x). \quad (4)$$

Результати порівняння розрахованих за формулами (3) і (4) результатів з експериментальними даними представлено на рис. 1. Із рис. 1 видно, що за $pH < pH_0$ експериментальна крива збігається з лінією, побудованою за формулою (3), а за $pH > pH_0$ експериментальні значення краще апроксимуються кривою, яка задається формулою (4).

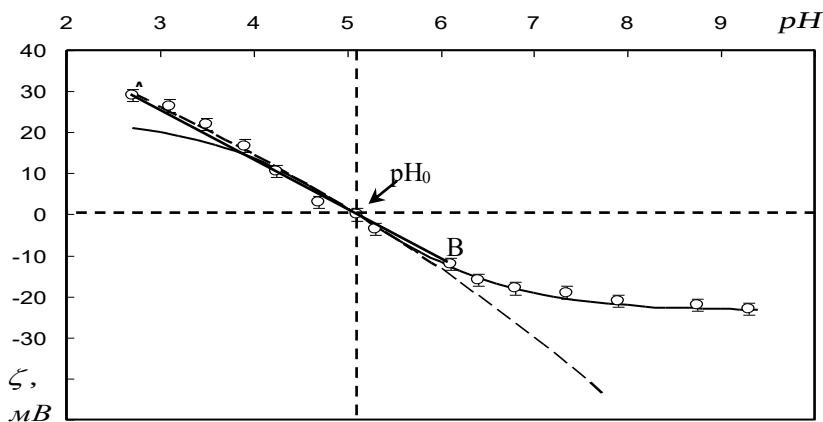


Рис. 1. Залежності дзета-потенціалу макромолекул сироваткового альбуміну людини від показника рН за $T = 298$ К водного розчину хлориду натрію з концентрацією 0,15 М (0,9 мас. %):

білі кружки – експериментальні значення з роботи (Jachimiska, Wasilewska, & Adamczyk, 2008, р. 6870); пунктирна лінія – залежність, розрахована за формулою (3); суцільна лінія – залежність, розрахована за формулою (4)

Детальний аналіз залежностей на рис. 1 та порівняння розрахункових значень дзета-потенціалу з експериментальними даними свідчить, що залежність дзета-потенціалу макромолекул сироваткового альбуміну людини у фізіологічному розчині від показника рН розчину можна апроксимувати в межах похибки експерименту функцією

$$\zeta_{alb} = \begin{cases} \zeta_{01} [1 - \exp(\alpha(\text{pH} - \text{pH}_0))], & \text{pH} < \text{pH}_0, \\ \zeta_{02} \tanh(\beta(\text{pH}_0 - \text{pH})), & \text{pH} > \text{pH}_0, \end{cases} \quad (5)$$

де ζ_{01} і ζ_{02} – гіпотетичні значення дзета-потенціалу за $\text{pH} \rightarrow 0$, α і β – емпіричні коефіцієнти, pH_0 5,1. Отримані такі чисельні значення величин: $\zeta_{01} = 118,46$, $\zeta_{02} = 23,53$, $\alpha = 0,119$, $\beta = 0,602$, причому бачимо, що $\zeta_{01} \approx 5\zeta_{02}$ та $\beta \approx 5\alpha$.

Зауважимо, що вигляд функцій (5) обрано таким чином, щоб емпіричні коефіцієнти були додатними. Середня відносна похибка відхилення моделювання від експериментальних значень не перевищила 5,5 % для експоненційного наближення за $\text{pH} < \text{pH}_0$ та 4,1 % для наближення за допомогою функції гіперболічного тангенса за $\text{pH} > \text{pH}_0$.

Дискусія і висновки

У роботі побудовано математичну модель залежності дзета-потенціалу макромолекули сироваткового альбуміну людини у 0,15 М (0,9 мас. %) водному розчині хлориду натрію (фізіологічний розчин) як функції зміни показника рН водного оточення. Аналіз експериментальних даних показав значну асиметричність вказаної залежності відносно ізоелектричної точки альбуміну – значення pH_0 , за якого дзета-потенціал альбуміну дорівнює нулю. Запропонована математична модель, яка апроксимує експериментальну залежність дзета-потенціалу макромолекул альбуміну від рН розчину в діапазоні значень $\text{pH} < \text{pH}_0$ експоненційною функцією, а в діапазоні $\text{pH} > \text{pH}_0$ функцією гіперболічного тангенса. Отримані співвідношення в межах похибки експерименту адекватно відтворюють залежність, отриману експериментальним шляхом: середня відносна похибка відхилення моделювання від експериментальних значень не перевищила 5,5 % за $\text{pH} < \text{pH}_0$ та 4,1 % за $\text{pH} > \text{pH}_0$. Подальші розвідки будуть спрямовані на дослідження застосовності запропонованої моделі для залежностей дзета-потенціалу макромолекул альбуміну як функції температури та концентрації хлориду натрію.

Внесок авторів: Артур Гуслістий – концептуалізація, дослідження, формальний аналіз, валідація даних, написання – оригінальна чернетка; Олексій Хорольський – методологія, дослідження, формальний аналіз, візуалізація, валідація даних, написання – оригінальна чернетка, написання – перегляд і редагування.

Список використаних джерел

Barbosa, L.R.S., Ortore, M.G., Spinozzi, F., Mariani, P., Bernstorff, S., & Itri, R. (2010). The importance of protein-protein interactions on the pH-induced conformational changes of bovine serum

albumin: A small-angle X-ray scattering study. *Biophysical Journal*, 98(1), 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.09.056>

Bhattacharya, A., Prajapati, R., Chatterjee, S., & Mukherjee, T.K. (2014). Concentration-dependent reversible self-oligomerization of serum albumins through intermolecular β -sheet formation. *Langmuir*, 30(49), 14894–14904. <https://doi.org/10.1021/la5034959>

Bukackova, M., Rusnok, P., & Marsalek, R. (2018). Mathematical methods in the calculation of the zeta potential of BSA. *Journal of Solution Chemistry*, 47, 1942–1952. <https://doi.org/10.1007/s10953-018-0830-0>

Jachimska, B., Wasilewska, M., & Adamczyk, Z. (2008). Characterization of globular protein solutions by dynamic light scattering, electrophoretic mobility, and viscosity measurements. *Langmuir*, 24(13), 6866–6872. <https://doi.org/10.1021/la800548p>

References

Barbosa, L.R.S., Ortore, M.G., Spinozzi, F., Mariani, P., Bernstorff, S., & Itri, R. (2010). The importance of protein-protein interactions on the pH-induced conformational changes of bovine serum albumin: A small-angle X-ray scattering study. *Biophysical Journal*, 98(1), 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.09.056>

Bhattacharya, A., Prajapati, R., Chatterjee, S., & Mukherjee, T.K. (2014). Concentration-dependent reversible self-oligomerization of serum albumins through intermolecular β -sheet formation. *Langmuir*, 30(49), 14894–14904. <https://doi.org/10.1021/la5034959>

Bukackova, M., Rusnok, P., & Marsalek, R. (2018). Mathematical methods in the calculation of the zeta potential of BSA. *Journal of Solution Chemistry*, 47, 1942–1952. <https://doi.org/10.1007/s10953-018-0830-0>

Jachimska, B., Wasilewska, M., & Adamczyk, Z. (2008). Characterization of globular protein solutions by dynamic light scattering, electrophoretic mobility, and viscosity measurements. *Langmuir*, 24(13), 6866–6872. <https://doi.org/10.1021/la800548p>

Отримано редакцією збірника / Received: 01.08.24

Прорецензовано / Revised: 22.08.24

Схвалено до друку / Accepted: 23.10.24

Artur GUSLISTY

Scopus ID: 57204956669

e-mail: aguslisty@gmail.com

Family Medicine Center "Amedika" LLC, Odesa, Ukraine

Oleksii KHOROLSKIY, PhD (Phys. & Math.), Assoc. Prof.

Scopus ID: 56667613000

e-mail: khorolskiy.alexey@gmail.com

Poltava V. G. Korolenko National Pedagogical University, Poltava, Ukraine

MATHEMATICAL MODEL OF THE DEPENDENCE OF THE ZETA POTENTIAL OF HUMAN SERUM ALBUMIN ON THE pH OF THE SALINE

Introduction. *The article is devoted to the construction of a mathematical model of zeta potential dependence of the human serum albumin macromolecule of in a 0.15 M aqueous solution of sodium chloride (saline) as a function of the pH change (acid-base balance) of the aqueous environment.*

Methods. *The asymmetry of the specified experimental dependence relative to the isoelectric point of albumin pH_0 5.1, at which the zeta potential of the macromolecule equals zero, was analyzed.*

Results. *A mathematical model is proposed, which provides division of the dependence of the zeta potential of the human serum albumin macromolecule in saline as a pH function into two intervals: 1) in the range of $pH < pH_0$, an exponential function is used*

for approximation; 2) in the range of $pH > pH_0$, the experimental dependence is approximated by the hyperbolic tangent function. Within the experimental error, the zeta potential values calculated using the proposed mathematical model correlate well with the experimental values: the average relative error is estimated to be less than 5.5 % at $pH < pH_0$ and did not exceed 4.1 % at $pH > pH_0$.

Conclusions. *The obtained results can be used to create a physical model that relates the spatial structure and electrophysical properties of the albumin macromolecule when the pH of the solution changes.*

Key words: *mathematical model, human serum albumin, zeta potential, pH, saline.*

Автори А. Гуслістий та О. Хорольський заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors A. Guslisty and O. Khorolskyi declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; in the decision to publish the results.