

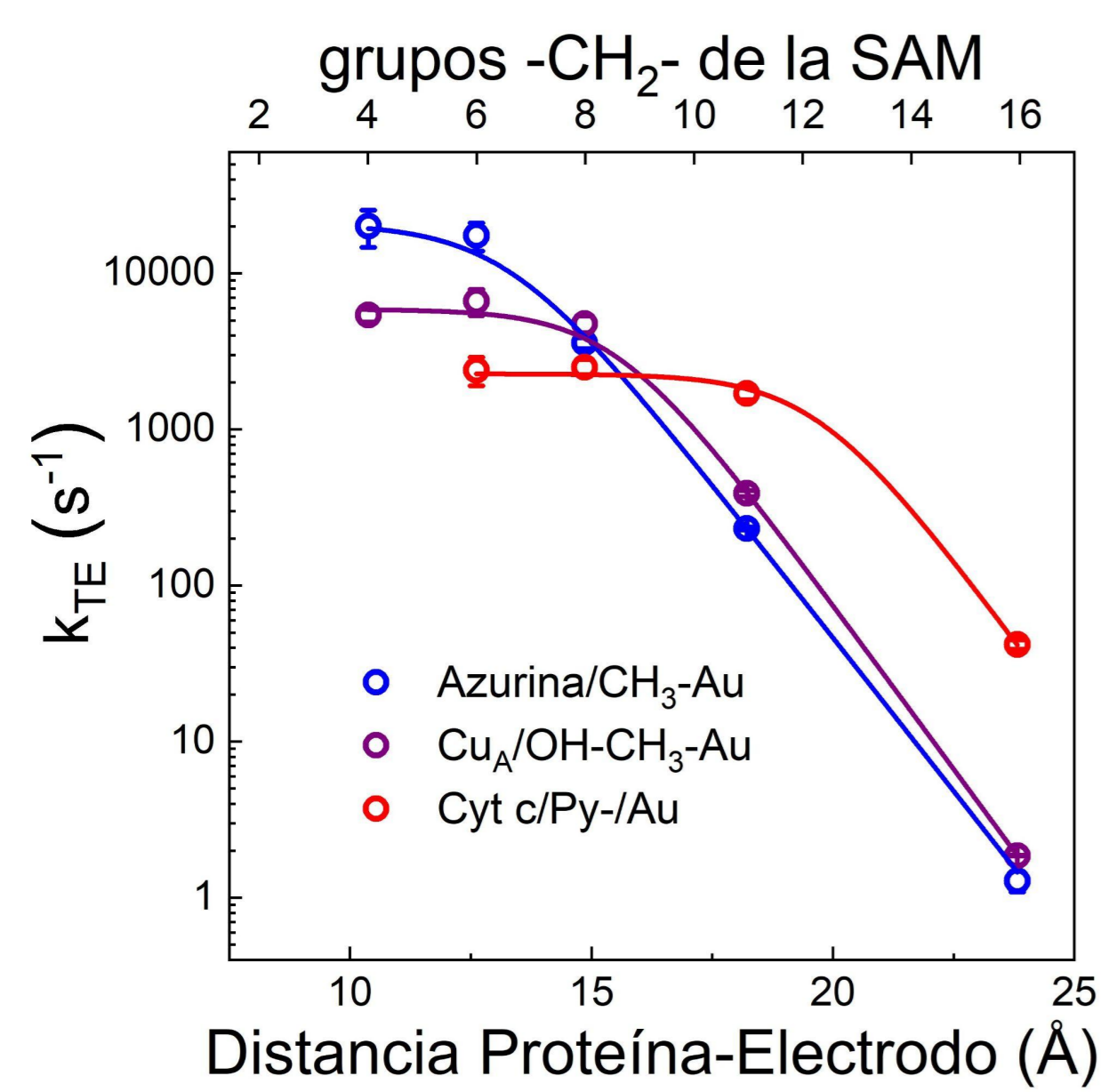
# Efectos de la dinámica proteica en la transferencia electrónica heterogénea de metaloproteínas en medios de alta viscosidad

Jonathan Szuster, María C. Santalla, Ulises A. Zitare, Marcos N. Morgada, Alejandro J. Vila y Daniel H. Murgida

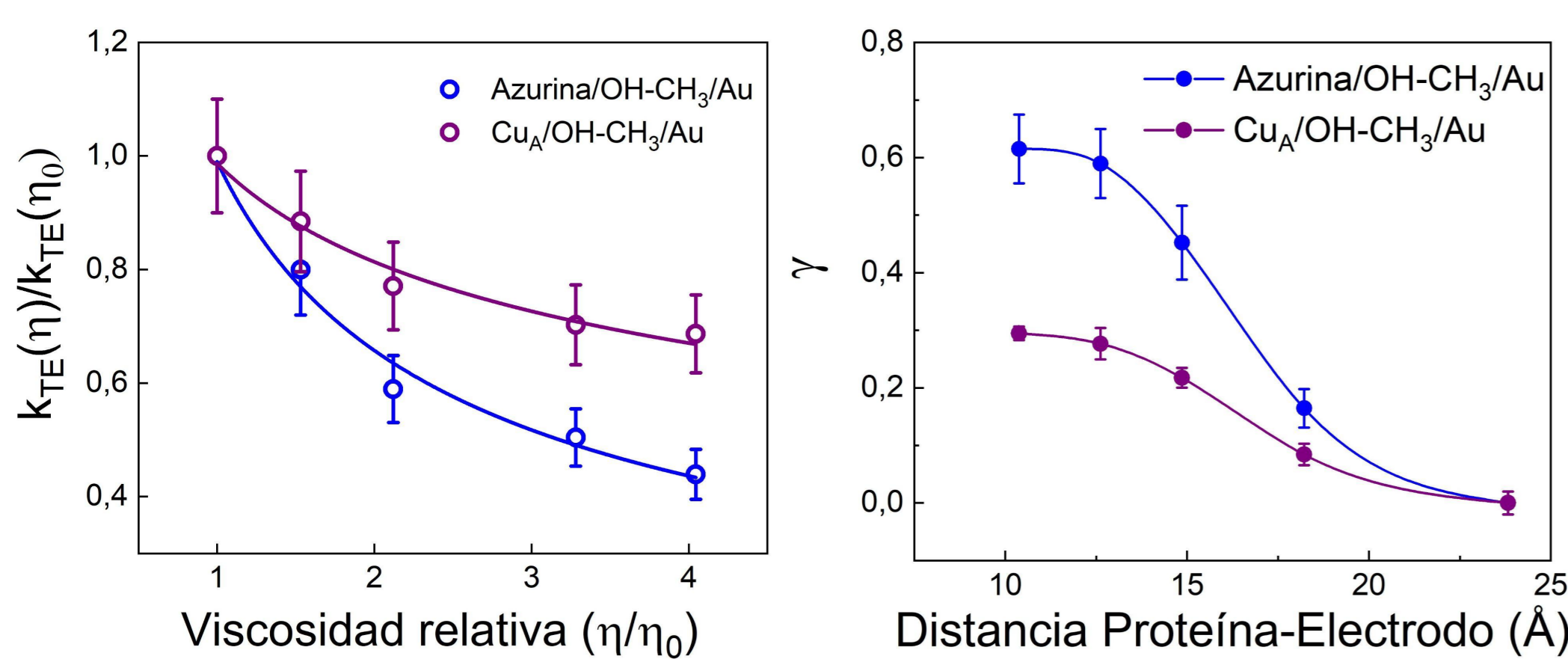
Dado que la viscosidad intracelular puede alcanzar valores de cientos de cP, resulta interesante estudiar la incidencia de la viscosidad del medio sobre la dinámica proteica y cómo esta repercute sobre la reacción de transferencia electrónica (TE). Para ello, se estudió el comportamiento de dos metaloproteínas adsorbidas sobre electrodos de oro recubiertos con monocapas autoensambladas (SAMs) y sumergidos en mezclas de líquido iónico-agua de distinta composición, alcanzando viscosidades del medio del orden de 1000 cP. Las metaloproteínas empleadas difieren fuertemente en sus centros de cobre. Se utilizaron sistemas modelo como la Azurina de *Pseudomonas aeruginosa* que posee un sitio de Tipo 1 (sitio monoatómico de cobre) y el fragmento soluble de la subunidad II de la citocromo c oxidasa de *Thermus thermophilus*, que alberga un sitio de Cu<sub>A</sub> (sitio biatómico de cobre). El objetivo del trabajo es entender el efecto de altas viscosidades sobre los parámetros asociados a la reacción de TE, perturbando la dinámica proteica, con el fin de determinar el mecanismo subyacente que rige la reacción de TE bajo estas condiciones.

## Antecedentes

Según la teoría de Marcus, la variación de  $k_{TE}$  con la distancia debería ser exponencial. Sin embargo, se observa que tiende a un *plateau* a distancias cortas (menores a 24Å), lo que señala un cambio de régimen de TE debido a un aumento del acoplamiento electrónico entre donador y aceptor ( $|H_{DA}|$ ).



Además, la  $k_{TE}$  disminuye hiperbólicamente al aumentar la viscosidad del medio con un factor de decaimiento ( $\gamma$ ) que depende del tipo de sitio metálico y de la longitud de la SAM, y por ende del  $|H_{DA}|$ .



Por otro lado, Matyushov desarrolló un nuevo modelo de TE que predice el cambio entre regímenes y que considera explícitamente la dinámica proteica redefiniendo el tiempo de relajación característico del proceso.

$$k_{NA} = \frac{\Delta}{h} \operatorname{erfc} \left( \frac{\lambda + e\phi}{\sqrt{4k_B T}} \right)$$

Acoplamiento electrónico, tipo Marcus,  $|H_{DA}| = \Delta$

$$\Delta = \Delta_0 \exp(-\beta(R + R_0))$$

$$k_{ET} = \frac{k_{NA}}{1 + g}$$

Acoplamiento electrónico promedio

$$g = \tau_{eff} \frac{\langle \Delta \rangle}{h}$$

Variación del desplazamiento proteico

$$\tau_{eff} = 2 \tau_R \exp(\beta^2 \delta R^2) h(\tau_x, \tau_R)$$

Factor que determina el cambio de regímenes

$$\tau_R = (\beta^2 D_R)^{-1}$$

Factor que determina el cambio de regímenes

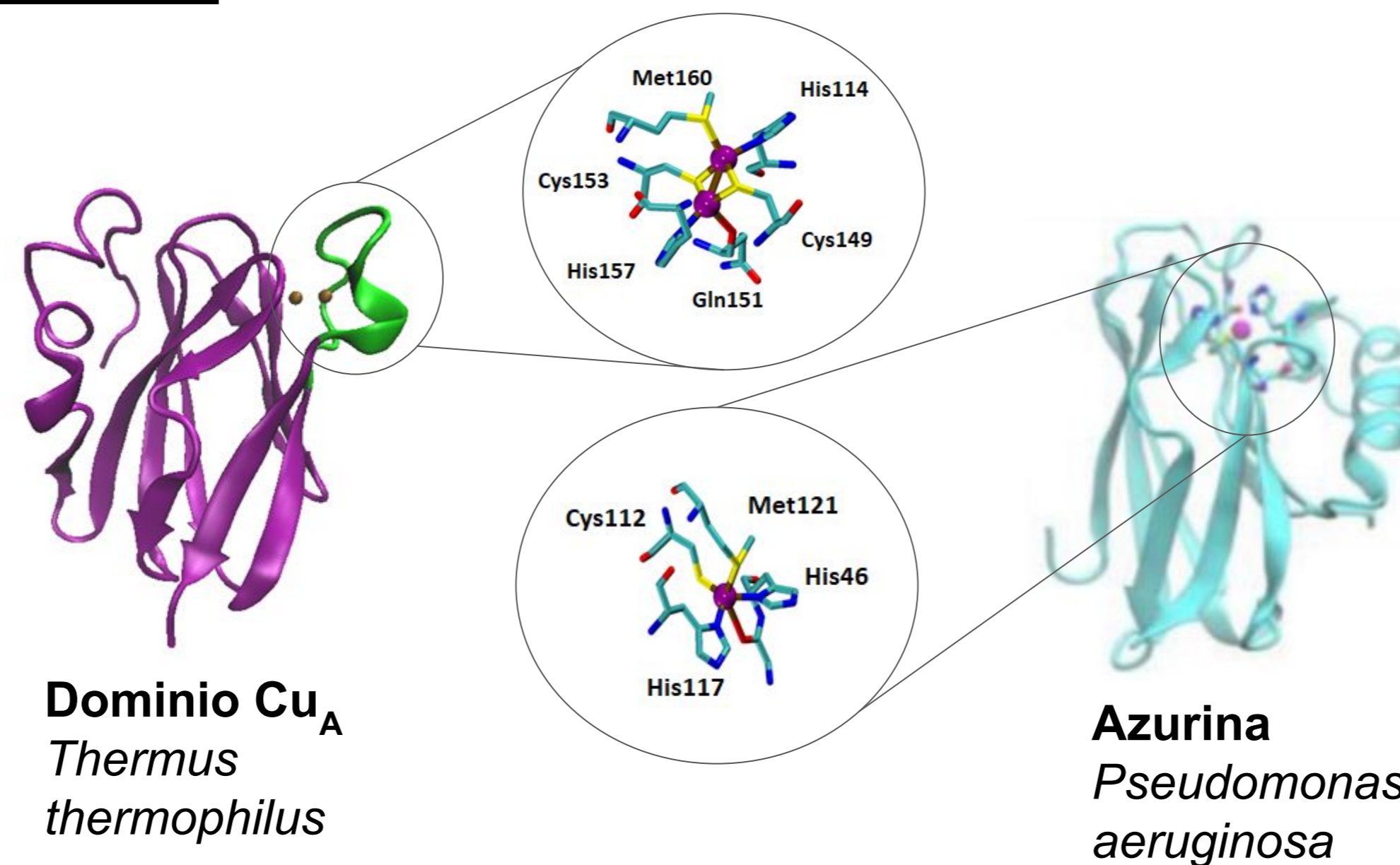
$$h(\tau_x, \tau_R) = \left( 1 - \sqrt{\frac{\lambda/2k_B T}{\lambda/2k_B T + 4\tau_x/\tau_R}} \right)$$

$\beta$ : Constante de decaimiento  
 $k_B$ : Constante de Boltzmann  
 $h$ : Constante de Planck reducida  
 $\phi$ : Sobrepotencial del electrodo  
 $D_R$ : Coeficiente de difusión

$\lambda$ : Energía de reorganización efectiva de la TE.  
 $R_0$ : Distancia mínima de unión desde el sitio metálico hasta el electrodo sin el recubrimiento de la SAM.

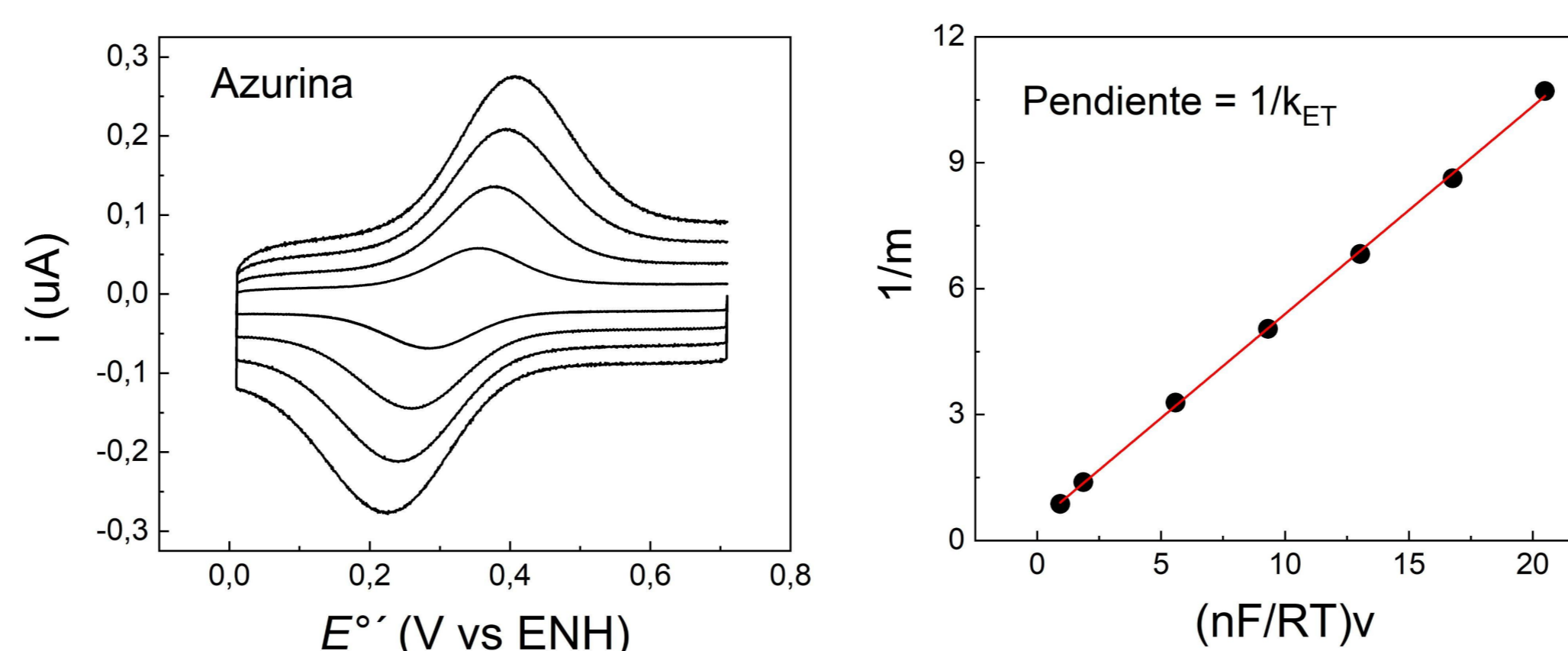
## Metodología

### Sistema



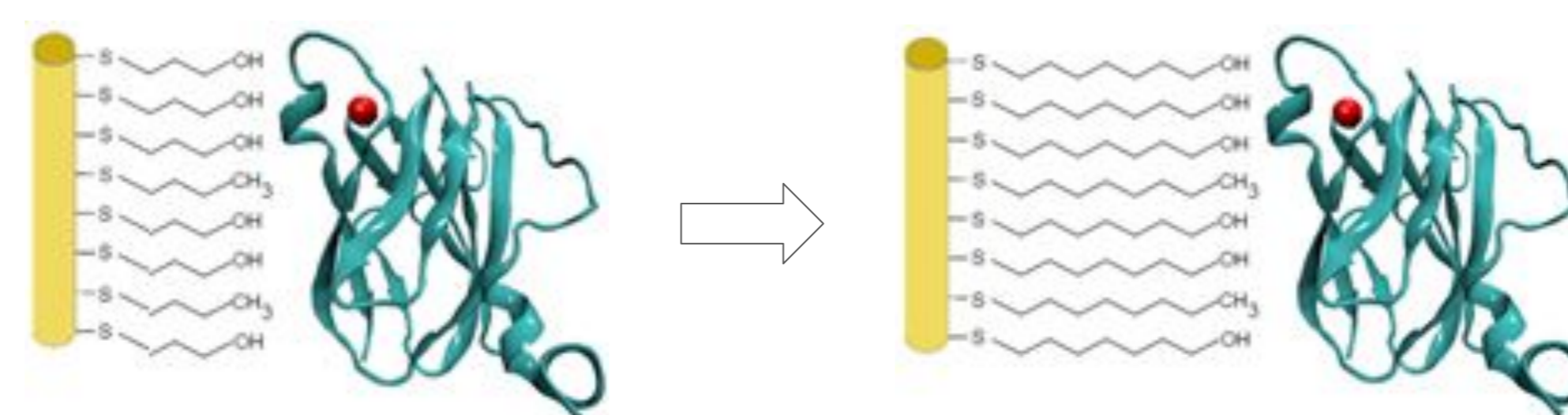
### Voltametría cíclica (VC) de films proteicos

Las proteínas se adsorbieron sobre electrodos de oro recubiertos con monocapas autoensambladas (SAMs) de alcanotioles  $\omega$ -sustituidos de fórmula  $(HS-(CH_2)_n-OH/CH_3)$ . Se llevaron a cabo VC a partir de las cuales se estimó el valor de  $k_{TE}$  empleando el formalismo de Laviron



### Experimentos

- Se estimaron los valores de  $\Delta G_{app}$  variando la longitud de la SAM y por lo tanto el  $|H_{DA}|$ , manteniendo la viscosidad constante ( $\eta = 1$ ).



- Se estimaron los valores de  $\Delta G_{app}$  variando la viscosidad del medio y manteniendo el  $|H_{DA}|$  constante (distancia de 24Å). Como agentes viscosantes se usaron sacarosa, PEG-4000 y Colina dihidrógeno fosfato (CDHP).

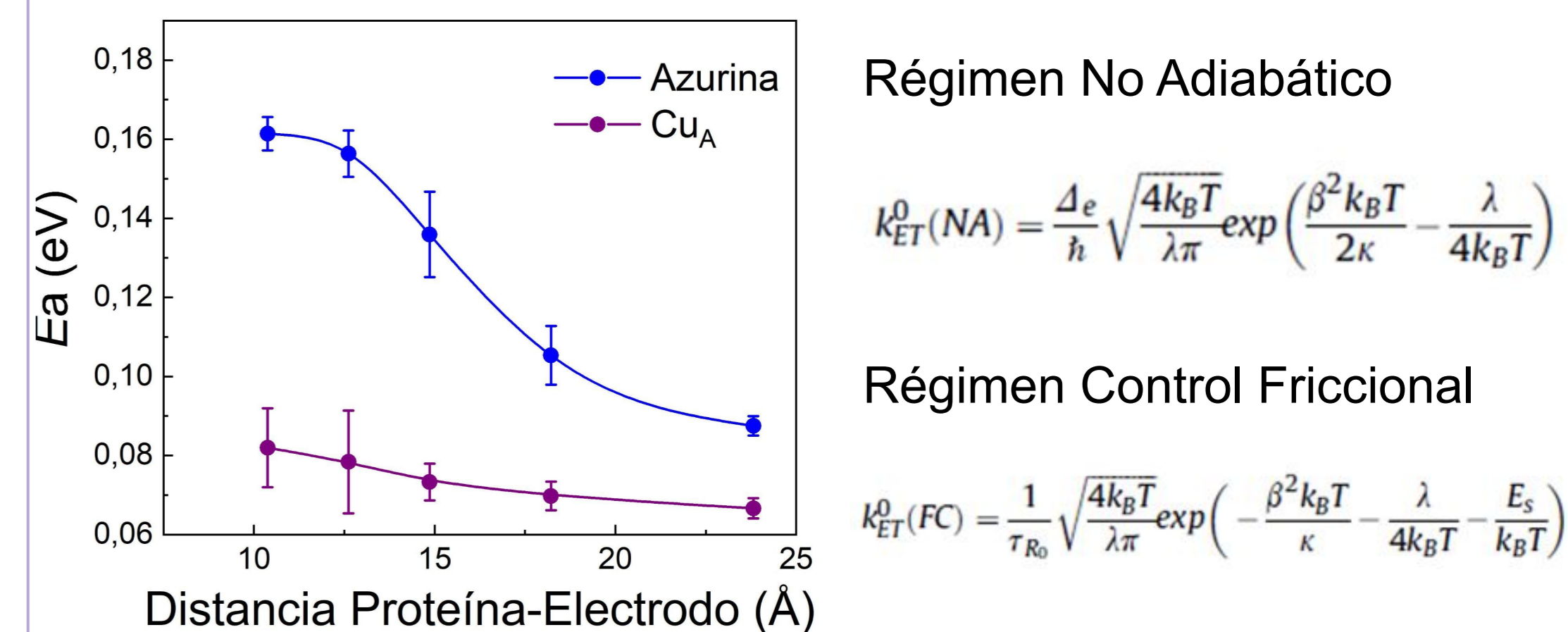
### Conclusiones

Los resultados muestran un paralelismo entre el efecto del incremento del  $|H_{DA}|$  y la viscosidad sobre la  $E_a$  del proceso de TE. Esto sugiere un mecanismo de control friccional de la TE bajo las condiciones de trabajo, descartando un régimen no-ergódico como fue señalado previamente en literatura.

## Resultados y Discusión

### Variación de $|H_{DA}|$ con $\eta = 1$

Observamos una disminución de  $\Delta G_{app}$  al aumentar el largo de la SAM de manera proporcional a  $\gamma^2$ .



Régimen No Adiabático

$$k_{ET}^0(NA) = \frac{\Delta e}{h} \sqrt{\frac{4k_B T}{\lambda \pi}} \exp\left(\frac{\beta^2 k_B T}{2\kappa} - \frac{\lambda}{4k_B T}\right)$$

Régimen Control Friccional

$$k_{ET}^0(FC) = \frac{1}{\tau_{Re}} \sqrt{\frac{4k_B T}{\lambda \pi}} \exp\left(-\frac{\beta^2 k_B T}{\kappa} - \frac{\lambda}{4k_B T} - \frac{E_s}{k_B T}\right)$$

$$E_a(NA) < E_a(FC)$$

	Azurina	Cu <sub>A</sub>
$E_s$ (eV)	0,112	0,044

Incerteza  $\pm 0.001$ eV

Proteína dependiente

Se observa que el incremento de la energía de activación es proporcional al parámetro empírico que relaciona la  $k_{ET}$  con la viscosidad.

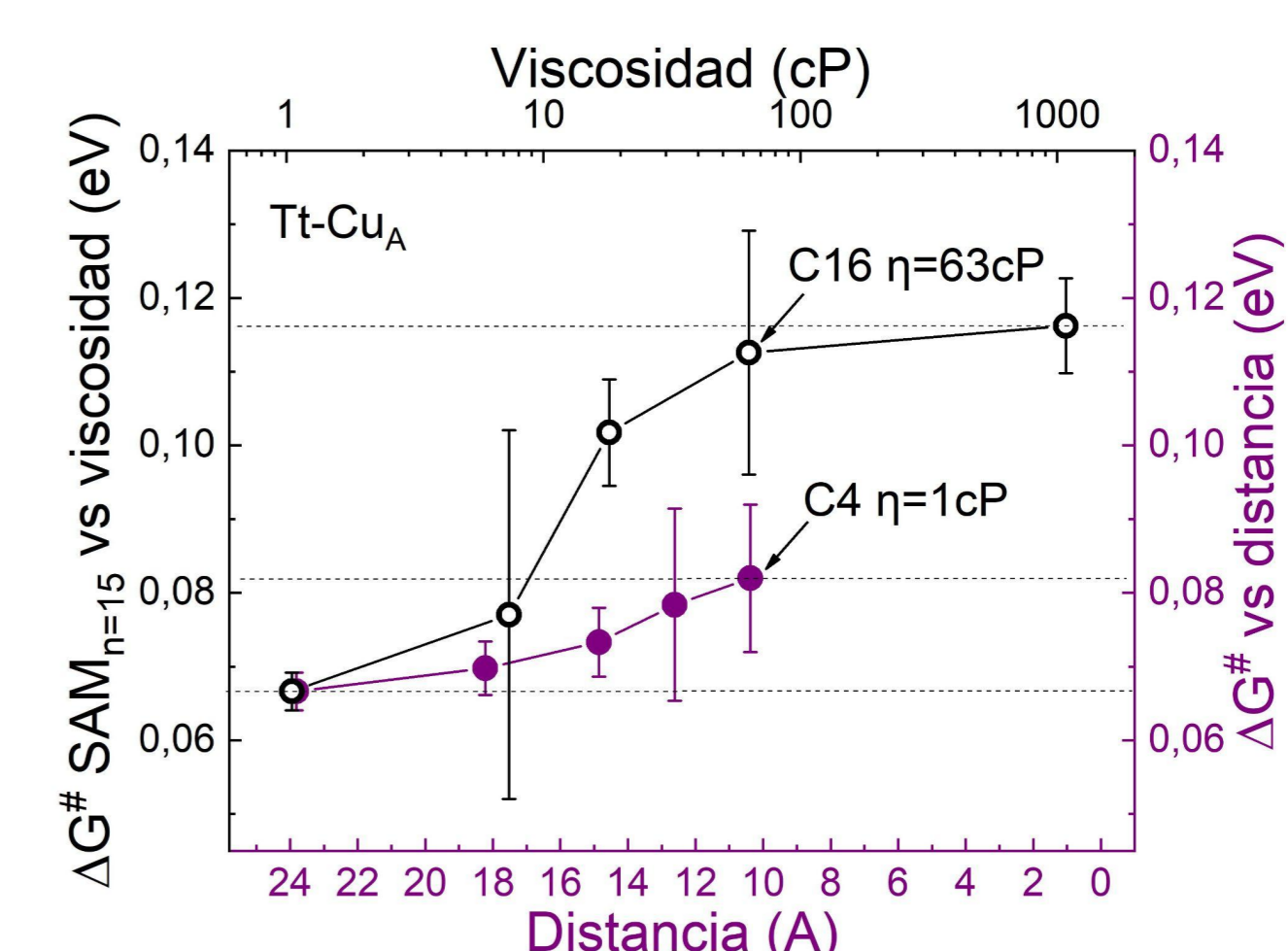
$\Delta G_{eff}^\#$  proporcional  $\gamma$

$$k_{TE}(\eta) = k_{TE}(\eta_0) \cdot \eta^{-\gamma}$$

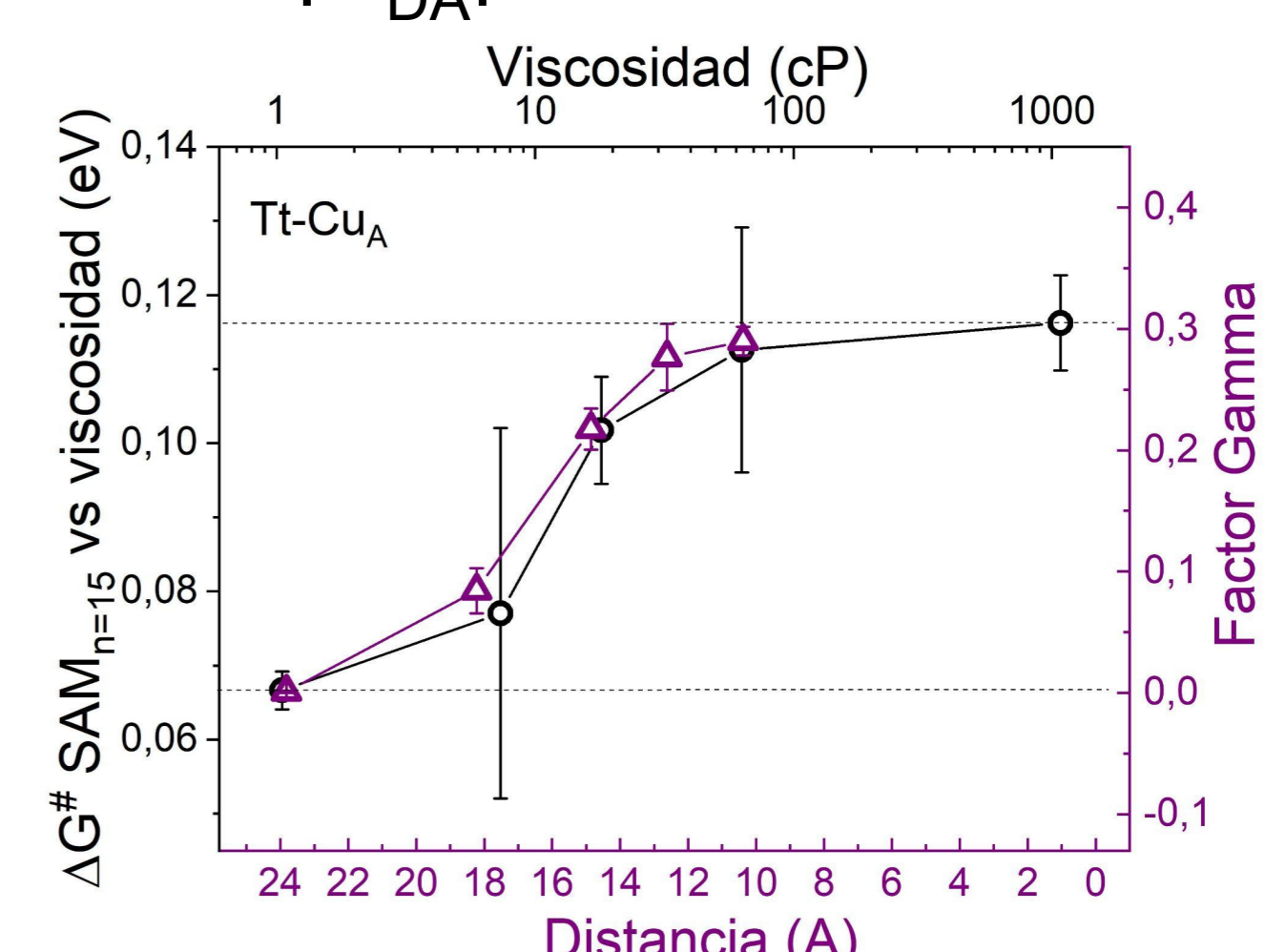
Fórmula empírica

### Variación de la viscosidad con $|H_{DA}|$ constante

Observamos un incremento sigmoideo de  $\Delta G_{app}$  al aumentar la viscosidad del medio.



Es sumamente interesante notar que el incremento en la energía de activación en función del incremento logarítmico de la viscosidad posee la misma forma funcional que el incremento del parámetro empírico  $\gamma$  con el incremento de  $|H_{DA}|$ .



## Referencias

- Matyushov et al; *Jour. Phys. Chem. B.* **2019**, 123, 7290-7301
- Zitare et al; *Elec. Acta.* **2020**, 342, 136095
- Khoshtariya et al; *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2013**, 39, 16515-16526