

Počítačové simulace fluorescenční korelační spektroskopie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra fyzikální a makromolekulární chemie

29. května 2015

Vypracoval: Jakub Kubečka
Vedoucí práce: RNDr. Peter Košovan, Ph.D.
Konzultanti: doc. RNDr. Filip Uhlík, Ph.D.
Mgr. Jitka Kuldová, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem zadanou bakalářskou práci zpracoval sám s přispěním vedoucího práce a používal jsem pouze literaturu v práci uvedenou. Dále prohlašuji, že nemám námitek proti půjčování nebo zveřejňování mé bakalářské práce nebo její části se souhlasem katedry.

Datum: 29. května 2015

.....
podpis

Abstrakt

Fluorescenční korelační spektroskopie (FCS) je experimentální metoda, pomocí které lze studovat difúzi fluorescenčně značených částic. Existující analytické modely, na základě kterých se FCS měření zpracovávají, jsou odvozeny za předpokladu normální difúze. Za tohoto předpokladu lze taky odvodit vztah mezi středním kvadratickým posunutím (MSD) a parametry autokorelační funkce získané z FCS experimentu. Tento vztah se v současnosti běžně využívá na vyhodnocení experimentálních dat i v případech, kdy předpoklad normální difúze není naplněn. Příkladem je difúze dlouhé makromolekuly (např. DNA), kdy na kratších časových škálách jednotlivé segmenty vykonávají subdifúzní pohyb. Cílem práce je provést počítačové simulace difúze makromolekuly za použití různých aproximací pro hydrodynamické interakce. Výsledkem pak bude srovnání MSD vypočteného přímo z trajektorie se zdánlivým MSD získaným vyhodnocením FCS autokorelační funkce. Na základě tohoto srovnání lze usuzovat na spolehlivost výše zmiňovaného postupu vyhodnocení experimentálních dat a jejich interpretace v kontextu subdifúze.

Abstract

Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) is an experimental technique which is used to study diffusion of fluorescently labeled particles. Existing analytical models which are used to process experimental FCS data assume normal diffusion. In such situation one can obtain a relation between the mean square displacement (MSD) and parameters of the FCS autocorrelation function. This relation is routinely applied to experimental data even in situations when the assumption of normal diffusion is not fulfilled. An example situation is the motion of a long macromolecule such as DNA, where the motion of individual segments is subdiffusive on shorter time scales. The aim of this work is to carry out computer simulations of diffusion of a single macromolecule using various approximations for hydrodynamic interactions. The main result will be the comparison of MSD computed directly from the trajectory with the apparent MSD obtained from the analysis of FCS autocorrelation curve. This comparison should elucidate the reliability of the above-mentioned procedure of analysis of experimental FCS data and their interpretation in the context of subdiffusion.

Obsah

1	Úvod	1
2	Teoretický popis makromolekul	2
2.1	Veličiny charakterizující makromolekuly	3
2.2	Difúze makromolekul ve zředěných roztocích	5
2.3	Hydrodynamické interakce a některé aproximace	6
2.4	Střední kvadratické posunutí	7
3	Simulační metody	10
3.1	Molekulová dynamika (MD)	12
3.2	Langevinův termostat	13
3.3	Metoda Lattice-Boltzmann	13
3.4	Redukované simulační jednotky	14
4	Model	16
4.1	Model simulovaného systému	16
4.2	Interakční potenciál	16
5	Fluorescenční korelační spektroskopie	19
5.1	Autokorelační funkce z trajektorie MD simulací	21
6	Výsledky a diskuze	23
6.1	Příprava počáteční konfigurace, ekvilibrace a vzorkování	23
6.2	Rouseho model	25
6.3	Kremerův-Grestův model	28
6.4	Model s hydrodynamickými interakcemi	31
6.5	Srovnání všech modelů	33
7	Závěr	36
8	Literatura	37

1 Úvod

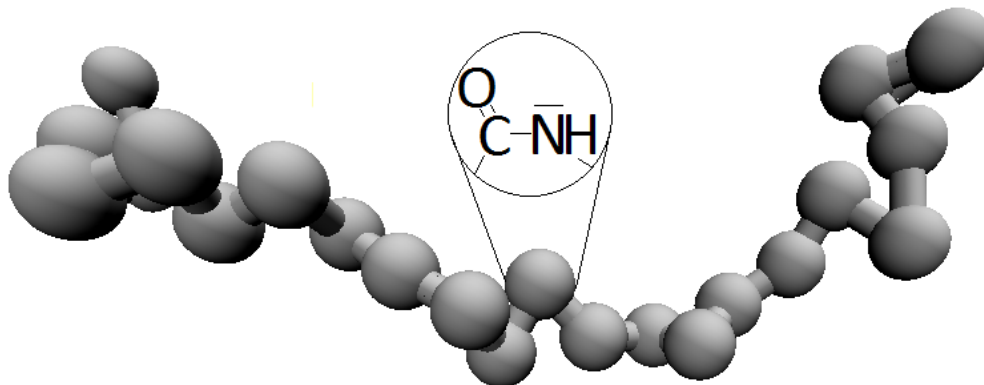
Fluorescenční korelační spektroskopie, FCS (z angl. *Fluorescence Correlation Spectroscopy*) [1] [2], je experimentální metoda, která monitoruje velmi zředěné roztoky látek obsahujících fluoreskující skupiny, popř. látek na nichž je přichycena fluorescenční molekula (fluorofor). Tato látka je pak fotoexcitována laserem a po určité době pohlcenou energií opět vyzáří formou fluorescence. Analyzováním časového vývoje intenzity vyzařovaného světla po fotoexcitaci velmi zředěného roztoku těchto látek lze zkoumat jejich dynamický vývoj.

FCS lze využít ke studiu difúze pozorovaných látek. Za tímto účelem existují analytické modely, které umožňují z experimentálního měření spočítat například střední kvadratické posunutí, MSD (z angl. *Mean Square Displacement*) [3]. Použití těchto analytických modelů dává pro větší molekuly, jako je třeba DNA, jiné hodnoty středního kvadratického posunutí než jakých by bylo vypočteno exaktně z teorie. V článku [4] je předpokládáno, že by odchylka mohla být způsobena použitím až moc specifického analytického modelu. Tento analytický model totiž dynamické chování větších molekul v roztoku popisuje pouze přibližně, a proto jsem se rozhodnul výsledky porovnat s jinými přesnějšími metodami.

V této práci se tudíž zaměřuji na simulace lineárních makromolekul různých délek a za použití různých modelů. Autokorelační funkci, jenž je výsledkem měření FCS, exaktně počítám z trajektorie simulace [3]. Z ní následně získávám aproximaci zdánlivou MSD* a srovnávám ji s opravdovou MSD získanou z trajektorie simulace. Numericky tak ukazují, že vnitřní dynamika makromolekul způsobuje systematické odchylky pro dosud používanou rovnici popisující metodu FCS.

2 Teoretický popis makromolekul

Již koncem 19. století byla v některých experimentech prokázána existence molekul obsahujících tisíce až miliony atomů. Nejprve se uvažovalo o větších klastrech malých molekul, ale později se ukázalo, že některé malé molekuly jsou schopny se kovalentně spojovat samy se sebou za tvorby dlouhých řetězců či sítí, nazývaných makromolekulární sloučeniny. Jednou z rozsáhlých skupin tohoto typu jsou tzv. měkké materiály (z angl. *soft matter*, odtud pochází i název naší výzkumné skupiny *Soft Matter Research Group*) [5] [6]. Velká část polymerů spadá do podskupiny měkkých materiálů a právě makromolekulární sloučeniny jsou předmětem této práce. Navzdory rozsáhlým strukturním možnostem makromolekul (hvězdice, kopolymery aj.) používám ve své práci nejjednodušší ze struktur a tím jsou dlouhé lineární řetězce, složené z opakujících se jednotek, označovaných jako monomerní jednotky. Abychom lineární řetězce molekul mohli považovat za makromolekulární sloučeninu, tak by polymer s řetězcí délky N (počet monomerních jednotek) měl mít téměř stejné chemické a fyzikální vlastnosti jako polymer s řetězcí o délce $N + 1$ [7].



Obrázek 1: Model makromolekulárního řetězce, který je použit jako model makromolekuly.

Ve fyzikální a makromolekulární chemii se pro představu struktur makromolekulárních sloučenin používá model kuliček spojených pružinkou (z angl. *bead-spring model*, viz Obrázek 1) [8]. Kulička pak v tomto modelu představuje část makromolekuly, monomerní jednotku či skupinu monomerních jednotek, a pružinky představují vazbu mezi dvěma kuličkami. Jedním z těchto známých modelů je volně vázaný řetězec (FJC, z angl. *Freely Jointed Chain*), tj. hmotné body spojené harmonickým potenciálem (viz kap. 4.2). Tyto zhrubené modely (z angl. *coarse-grained model*) [8] [9] kuliček spojených pružinkou nám slouží jako kvalitativní model na popis vlastností makromolekuly. Pro jisté univerzální vlastnosti, jako je třeba velikost

makromolekuly, je většina chemických vlastností nepodstatná a tyto zhrubené modely tak zachovávají především konektivitu a vyloučený objem.

Jednotlivé kuličky jsou v polymerech spojeny vazbou, kolem které může docházet k rotaci (až na některé výjimky, např.: polyacetylen), což vede k mnoha vnitřním stupňům volnosti. Množství konformací je dáno entropií a hyperplochou potenciální energie dané makromolekuly. Tato minima nejsou však příliš hluboká, a proto se makromolekuly díky termálním fluktuacím v roztoku přirozeně pohybují, různě vibrují či rotují, čímž překonávají energetické bariéry mezi jednotlivými minimy velmi rychle (viz kap. 3). Makromolekuly tak pro různé časy nabývají široké škály různých konformací. Na tyto strukturní změny mají vliv všechny okolní aspekty jako vlastnosti rozpouštědla, mezičásticové interakce, teplota, entropie aj. Pro makromolekuly se zavedli některé charakteristické veličiny, o kterých píší v následující kapitole.

2.1 Veličiny charakterizující makromolekuly

V této kapitole popisují, jak můžeme na jednotlivé makromolekuly nahlížet, charakterizovat jejich strukturu či jaké základní veličiny u nich můžeme měřit, popř. počítat. Zaměřuji se pouze na vybrané veličiny, které jsou relevantní pro tuto práci a pro další diskuzi.

Na makromolekulární lineární řetězec délky N nahlížíme jako na N kuliček (částic) spojených pružinkami. Částice i o hmotnosti m_i můžeme charakterizovat jejich polohou \vec{r}_i a rychlostí \vec{v}_i . Těžiště molekuly \vec{r}_T se nachází ve váženém průměru poloh všech těchto částic

$$\vec{r}_T = \frac{\sum_{i=1}^N m_i \vec{r}_i}{\sum_{i=1}^N m_i}. \quad (1)$$

Vzdálenost mezi dvěma částicemi i a j pak označujeme jako Δr_{ij}

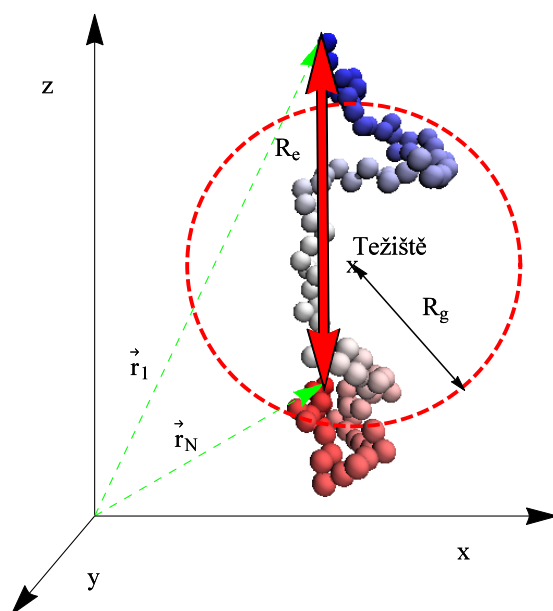
$$\Delta r_{ij} = |\vec{r}_i - \vec{r}_j|. \quad (2)$$

V kontextu lineárních makromolekul a rovnice 2 je používána tzv. vzdálenost konců řetězce $R_e = \Delta r_{1N}$ (viz Obrázek 2). Jiný způsob, jak charakterizovat velikost mo-

lekuly, je pomocí tzv. gyračního poloměru R_g

$$R_g^2 = \frac{\sum_{i=1}^N m_i \Delta r_{iT}^2}{\sum_{i=1}^N m_i}, \quad (3)$$

kde Δr_{iT} označuji jako vzdálenost částice i od těžiště makromolekuly. Gyrační poloměr makromolekuly je takový poloměr, který by měla homogenní koule o stejné hmotnosti se stejným momentem setrvačnosti (viz Obrázek 2).



Obrázek 2: Makromolekulární řetězec s vyznačenými základními charakteristikami jako jsou polohy konců řetězce a jejich vzájemná vzdálenost R_e .

Jelikož konformace makromolekul se v celém polymeru neustále mění a s nimi se mění i některé veličiny (např.: R_g , R_e), charakterizují se makromolekuly souborovým průměrem těchto veličin, tj. průměrem těchto veličin přes všechny makromolekuly v systému (viz kap. 3). Některé fyzikální veličiny, jako je R_e či R_g , jsou například pro Rouseho model přímo úměrné odmocnině z délky makromolekuly, např. $R_g \sim N^{1/2}$, což je univerzálním vztah nezávislý na chemických detailech makromolekuly [5] [8] [9].

2.2 Difúze makromolekul ve zředěných roztocích

Vhodíme-li do vody kostku cukru, nezůstane v celku, ale začne se pomalu rozpouštět. Vhodíme-li kostku cukru do šálku s horkým čajem, rozpustí se do objemu šálku mnohem rychleji než ve studené vodě a během chvilky tak máme celý čaj oslazený. Tento jev se nazývá difúze a je způsoben termálními fluktuacemi molekul vody, jakožto rozpouštědla cukru. Pokud bychom množství cukru v šálku v poloze \vec{r} a čase t popsali koncentrací $c(\vec{r}, t)$, tak bychom vývoj koncentrace v čase mohli popsat pomocí druhého Fickova zákona [10]

$$\frac{\partial c(\vec{r}, t)}{\partial t} = D \Delta c(\vec{r}, t), \quad (4)$$

kde D značí difúzní koeficient. Ten je definován jako počet molů dané složky, která projde jednotkovou plochou za jednotku času při jednotkovém spádu koncentrace. Difúzní koeficient tak charakterizuje roztok při dané teplotě T a tlaku p a s narůstající teplotou je difúzní koeficient pro systém voda-cukr větší, což má za následek, že se cukr rozpouští rychleji v čaji než ve studené vodě. Difúzní koeficient lze také definovat z Einsteinova(-Smoluchovského) modelu pro třírozměrný systém

$$D = \frac{k_B T}{\zeta}, \quad (5)$$

kde k_B je Boltzmannova konstanta a ζ je frikční koeficient charakterizující tření mezi rozpouštědlem a částicí. Jeho reciproká hodnota $1/\zeta$ se nazývá mobilita, pohyblivost, dané látky. Aproximujeme-li pohyb částice v roztoku na pohyb koule o poloměru a v kontinuu, pak lze frikční koeficient vyjádřit podle Stokesova zákona a ve spojení s rovnicí 5 tak dostaneme Stokesovu-Einsteinovu rovnici

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a}, \quad (6)$$

kde η značí dynamickou viskozitu rozpouštědla.

Představme si, že pozorovaná částice v roztoku je obklopena molekulami rozpouštědla, které do ní narážejí, a proto na ní můžeme nahlížet jako na tzv. Brownovu částici [11], jejíž chování můžeme popsat pomocí Langevinovy rovnice [12]

$$\zeta \frac{d\vec{r}}{dt} = -\nabla U(\vec{r}) + f(t), \quad (7)$$

kde $U(\vec{r})$ značí externí potenciál, jako je např. gravitační pole, a $f(t)$ představuje vliv součtu působení molekul rozpouštědla na částici. $f(t)$ je nezávislá náhodná funkce se střední hodnotou v 0 a rozptylem $2\zeta k_B T$. Jsou-li v roztoku dvě částice, mohou spolu interagovat. Jednotlivé částice spolu mohou interagovat na vzdálenosti

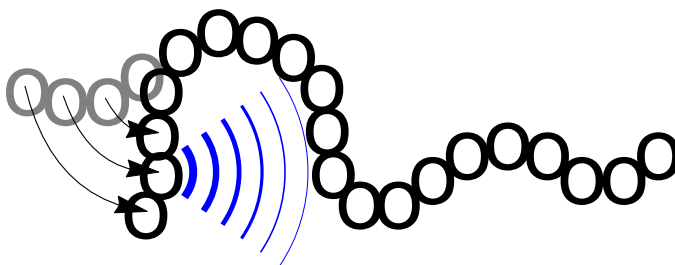
i několikrát větší než je jejich vyloučený objem, kde hybnost na jiné částice přenáší rozpouštědlo. V takovém případě mluvíme o hydrodynamických interakcích. Časový vývoj hustoty pravděpodobnosti výskytu částic v prostoru je dán Smoluchowského rovnicí [12]

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} = \sum_{n=1}^N \frac{\partial}{\partial \vec{r}_n} \mathbf{H}_{nm} \left(k_B T \frac{\partial \Psi}{\partial \vec{r}_m} + \frac{\partial U}{\partial \vec{r}_m} \Psi \right), \quad (8)$$

kde \mathbf{H}_{nm} je prvek matice pohyblivosti \mathbf{H} na pozici (n, m) . Matice \mathbf{H} popisuje tyto hydrodynamické interakce, avšak není snadno řešitelná. Hydrodynamickým interakcím věnuji celou následující kapitolu.

2.3 Hydrodynamické interakce a některé aproximace

Pohybuje-li se částice makromolekuly roztokem, sráží se a interaguje s částicemi rozpouštědla. Pohybující částice těmito srážkami a interakcemi předává rozpouštědlu hybnost. Síla rozpouštědla, která utlumuje rychlost částic, je označována jako frikční (třecí). Odevzdaná hybnost následně putuje rozpouštědlem a nakonec může ovlivnit i jinou částici. Je důležité odlišit rozdíl mezi termálními fluktuacemi rozpouštědla a hydrodynamickými interakcemi. Termální fluktuace vyvolávají náhodné síly působící na pozorovanou částici tím, jak do ní narážejí částice rozpouštědla, avšak hydrodynamické interakce jsou vyvolány jinou částicí, která se pohybuje roztokem, třením předává hybnost rozpouštědlu, které pak právě může pohnout jinou částicí v roztoku. Hydrodynamické interakce ovlivňují dynamický vývoj systému a nabývají obzvláště velkého významu u polymerů, ve kterých mohou být konce jednoho řetězce vzdáleny natolik, že je interakční potenciál již neovlivňuje, ale mohou



Obrázek 3: Černými kuličkami vyznačená makromolekula, jejíž jeden konec se právě pohnul z původních šedých pozic. Modře oblouky vyznačují přenos hybnosti rozpouštědlem. Hybnost se šíří rozpouštědlem a ovlivňuje jiné částice makromolekuly. Tomuto se říká hydrodynamická interakce, pomocí níž mohou interagovat i částice mezi nimiž není definován žádný interakční potenciál.

se ovlivňovat skrze hydrodynamické interakce (viz Obrázek 3).

Hydrodynamické interakce lze popsat pomocí obecné Langevinovy rovnice [12]

$$\frac{\partial}{\partial t} \vec{r}_n = \sum_{m=1}^N \mathbf{H}_{nm} \left(-\frac{\partial U}{\partial \vec{r}_m} + f_m(t) \right) + \frac{1}{2} k_B T \sum_{m=1}^N \frac{\partial}{\partial \vec{r}_m} \mathbf{H}_{nm}, \quad (9)$$

kde \mathbf{H} vyjadřuje matici pohyblivosti, o které byla řeč již v rovnici 8. Matice \mathbf{H} bývá velmi komplikovaná funkce pozic všech částic a času, ale existuje velké množství aproximací, které onu matici pohyblivosti zjednodušují. Nejznámějšími aproximacemi pro dynamiku polymerů v roztoku jsou Rouseho model a Zimmův model [12] [8].

V Rouseho modelu nejsou uvažovány žádné hydrodynamické interakce, ani interakce vyloučeného objemu, protože částice jsou považovány za bodové. Navíc všechny vázané částice jsou popsány harmonickým interakčním potenciálem (viz kap. 4.2). Matice pohyblivosti \mathbf{H} je v takovém případě diagonální maticí

$$\mathbf{H}_{ij} = \frac{\delta_{ij}}{\zeta}, \quad (10)$$

kde δ_{ij} je Kroneckerovo delta.

Pro dynamiku zředěných roztoků je však potřeba započítat hydrodynamické interakce, což nám umožní Zimmův model. Zimmova aproximace pro \mathbf{H}_{ij} v takovém případě nabývá složitější podoby [12]

$$\mathbf{H}_{ii} = \frac{1}{\zeta} \quad (11)$$

a

$$\mathbf{H}_{ij} = \frac{1}{8\pi\eta_s \Delta r_{ij}} ((\vec{r}_i - \vec{r}_j) \times (\vec{r}_i - \vec{r}_j) + \mathbb{1}) \quad \text{pro } i \neq j. \quad (12)$$

2.4 Střední kvadratické posunutí

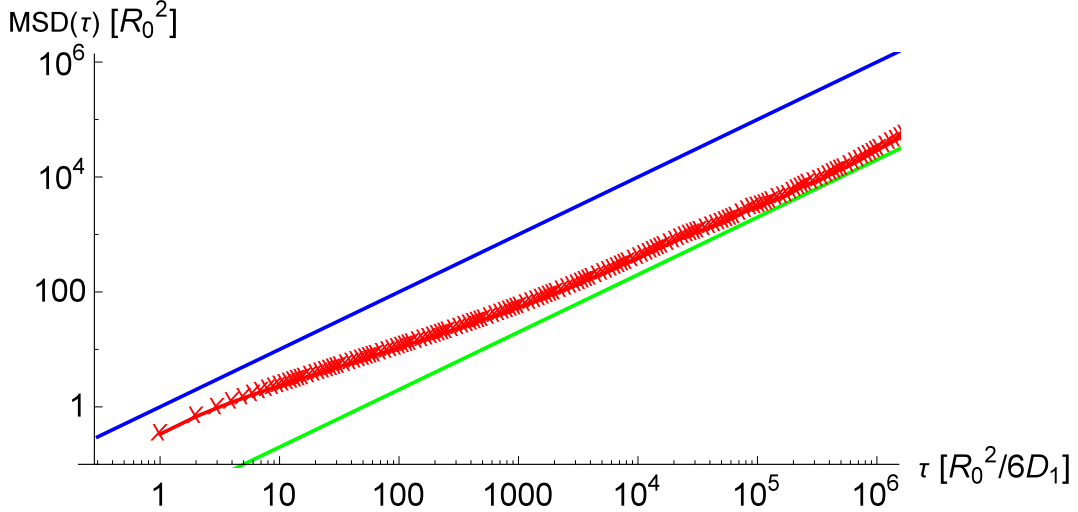
Pro svou práci potřebuji ještě zavést tzv. střední kvadratické posunutí $\text{MSD}(\tau)$ (z angl. *Mean Square Displacement*)

$$\text{MSD}(\tau) = \langle (|\vec{r}(\tau) - \vec{r}(0)|^2) \rangle, \quad (13)$$

kde $\vec{r}(0)$ je poloha objektu v prostoru na počátku a $\vec{r}(\tau)$ je poloha tohoto objektu po čase τ a ostré závorky představují střední hodnotu přes všechny možné realizace.

Pro dlouhé časové intervaly nabývá funkce $\text{MSD}(\tau)$ lineární závislosti na čase [13]

$$\lim_{\tau \rightarrow \infty} \text{MSD}(\tau) = \lim_{\tau \rightarrow \infty} 6D\tau. \quad (14)$$



Obrázek 4: Střední kvadratické posunutí $\text{MSD}(\tau)$ pro částice makromolekuly dlouhé 50 jednotek (červená křivka) se dvěma limitními případy, tj. limita pro jednu samostatnou částici (modrá přímka) a limita pro jednu částici s 50-ti násobně nižším difúzním koeficientem (zelená přímka). Na grafu je pozorovatelné, že $\text{MSD}(\tau)$ přechází z dynamického pohybu podobného 1 samostatné částici a postupně konverguje k druhému limitnímu případu $6\tau D_T$.

Střední kvadratické posunutí můžeme v kontextu makromolekulárních sloučenin vztáhnout k těžišti makromolekuly, ale i k jednotlivým částicím makromolekuly. Pro částici i pak rovnice 13 analogicky přechází na

$$\text{MSD}_i(\tau) = \langle (|\vec{r}_i(\tau) - \vec{r}_i(0)|^2) \rangle. \quad (15)$$

Výsledkem Rouseho i Zimmova modelu modelu je, že na kratší časové škále je střední kvadratické posunutí subdifúzní, tj. má charakter difúze mezi dynamikou jedné částice a těžištěm celé makromolekuly (viz Obrázek 4). Pro delší časové úseky, kdy je střední kvadratické posunutí větší než R_g^2 , je střední kvadratické posunutí totožné s difúzí těžiště makromolekuly. Je to způsobeno pamětí systému, kdy částice se mohou ve svém okolí pohybovat libovolně, ale nemohou se vzdálit od pomalu se pohybující makromolekuly. Střední kvadratické posunutí je tedy semknuto dvěma limitními případy. Jedním limitním případem je samostatná difundující částice s difúzním koeficientem D_1 a druhým limitním případem je difúze těžiště makromolekuly s difúzním koeficientem D_T . Pro Rouseho model platí [12]

$$D_T = ND_1, \quad (16)$$

což však obecně neplatí pro všechny modely, ale stále platí, že pro dlouhé časové intervaly je funkce $\text{MSD}_i(\tau)$ opět lineární

$$\lim_{\tau \rightarrow \infty} \text{MSD}_i(\tau) = \lim_{\tau \rightarrow \infty} 6\tau D_T. \quad (17)$$

Konvergence středního kvadratického posunutí částice ke střednímu kvadratickému posunutí těžiště je dobře vidět na Obrázku 4. Z grafu je vidět, že oblast $10^1 - 10^3 [R_0^2/6D_1]$ je také lineární, ale s jinou směrnici. Režim difúze můžeme tedy určit z rovnice [14]

$$\text{MSD}(\tau) \sim \tau^\alpha, \quad (18)$$

kde α určuje režim difúze. Je-li $\alpha = 1$ jedná se o normální difúzi. V případě nerovnosti se jedná o anomální difúze, která je pro $\alpha < 1$ označována jako subdifúze a pro $\alpha > 1$ jako superdifúze. Pro Rouseho model analyticky vychází α v subdifúzní oblasti rovno $1/2$, pro Zimmův model pak $2/3$ [12].

Střední kvadratické posunutí pozorované částice je ovlivněno tím, zda-li je daná částice vázána k jiné částici či částicím a nebo jaký vliv na pozorovanou částici mají hydrodynamické interakce ostatních částic, protože pak se významně mění její dynamické vlastnosti.

3 Simulační metody

Na systém mnoha částic, N částic, nahlížíme skrze statistickou termodynamiku jako na statistické soubory [15]. Jednotlivé polohy \vec{r}_i a hybnosti \vec{p}_i částic systému charakterizují bod v $6N$ -dimenzionálním tzv. fázovém prostoru

$$(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, \vec{p}_1, \dots, \vec{p}_N) \equiv (\vec{r}^N, \vec{p}^N). \quad (19)$$

Oprostíme-li se od hybností tohoto systému, tak mluvíme o tzv. konfiguračním prostoru

$$(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N) \equiv \vec{r}^N. \quad (20)$$

Energie $E(\vec{r}^N, \vec{p}^N)$ je dána kinetickou energií $K(\vec{p}^N)$ a potenciální energií $U(\vec{r}^N)$ tohoto systému

$$E(\vec{r}^N, \vec{p}^N) = K(\vec{p}^N) + U(\vec{r}^N) = \sum_{i=1}^N \frac{|\vec{p}_i|^2}{2m_i} + U(\vec{r}^N). \quad (21)$$

Soubory, které zachovávají počet částic N , celkový objem V a energii E se označují za mikrokanonický soubor typu NVE . Mnohem častěji však systémy zachovávají místo energie teplotu T , potom hovoříme o kanonickém souboru typu NVT . Kanonický soubor je tedy pojmem statistické termodynamiky. Hustota pravděpodobnosti $\Pi(\vec{r}^N, \vec{p}^N, N, V, T)$ nalezení systému kanonického souboru NVT v určitém bodě fázového prostoru je

$$\Pi(\vec{r}^N, \vec{p}^N, N, V, T) = \frac{\exp(-E(\vec{r}^N, \vec{p}^N)/k_B T)}{\int \exp(-E(\vec{r}^N, \vec{p}^N)/k_B T) d\vec{r}^N d\vec{p}^N}. \quad (22)$$

Někdy nám postačí pouze pravděpodobnost nezávislá na hybnostech, protože v rovnici 22 lze vykrátit faktor $\exp(-K(\vec{p}^N)/k_B T)$ a rovnice tak přejde na

$$\Pi(\vec{r}^N, N, V, T) = \frac{1}{Q_{NVT}} \exp(-U(\vec{r}^N)/k_B T), \quad (23)$$

kde Q_{NVT} je tzv. konfigurační integrál

$$Q_{NVT} = \int \exp(-U(\vec{r}^N)/k_B T) d\vec{r}^N. \quad (24)$$

Chceme-li na pozorovaném souboru měřit veličinu X , tak pro dostatečně velký systém naměříme průměr přes všechny možné realizace vážený hustotou pravděpodobnosti, tj. střední hodnotu veličiny $\langle X \rangle$

$$\langle X \rangle = \int X(\vec{r}^N, \vec{p}^N) \Pi(\vec{r}^N, \vec{p}^N) d\vec{r}^N d\vec{p}^N. \quad (25)$$

Nezávisí-li X na impulsech, tak rovnice 25 analogicky přechází na

$$\langle X \rangle_{NVT} = \frac{1}{Q_{NVT}} \int X(\vec{r}^N) \exp(-U(\vec{r}^N)/k_B T) d\vec{r}^N. \quad (26)$$

Při experimentálním měření tedy každým měřením získáme veličinu X , která však může být ovlivněna některými chybami měření, jako je třeba lidská nedokonalost, a proto se ze statistických důvodů provádí více měření. Pomocí více měření nelze odstranit systematickou odchylku, ale lze zmenšit statistickou chybu.

Ke zkoumání a popsání libovolného systému nám slouží experimenty. Avšak některé experimenty jsou v běžné laboratoři těžko realizovatelné, a to ať už z důvodu finančních (finančně náročné materiály a přístroje), prostorových (pozorování astronomických jevů), zdravotních (práce s nebezpečnými látkami) či časových (doba experimentu je delší než je člověk za svůj život schopen obětovat). Pro takové případy je potřeba sáhnout po jiném způsobu získání informace o systému. Na základě teoretických předpokladů o systému, můžeme sestavit model, tj. rovnice popisující chování takového systému od úplného základu pomocí kvantové mechaniky. Řešení těchto rovnic pomocí výpočetních prostředků, tzv. *ab initio* výpočty, mohou vést např. k popsání evoluce systému v čase. Tyto výpočty bychom si pro jejich složitost a časovou náročnost nemohli dovolit (např.: pohyb kapra v rybníce popsaného relativistickou kvantovou mechanikou), proto je potřeba popsání systému patřičně zjednodušit. Důležitým aspektem tohoto zjednodušení je fenomén, že některé veličiny (jevy) charakterizující polymery jsou univerzální (např.: gyační poloměr R_g) a nezávisí tak na všech detailech [8] [9]. Aproximace tak urychlí samotný výpočet na úkor systematické chyby výsledku. Cílem teoretického fyzikálního chemika je tedy vybrat ten správný poměr mezi aproximací a časovou cenou výpočtu. Jednou z významných aproximací, které v simulacích využívám, je upuštění od kvantově-mechanických jevů a popsání systému na základě klasické mechaniky.

Pro statisticko-termodynamický popis fyzikálně-chemických systémů bylo navrženo několik metod, mezi něž patří např. metoda Monte Carlo (MC) či metoda molekulové dynamiky (MD) [15]. Ve své práci využívám výpočty založené na molekulové dynamice, a proto této metodě věnuji následující kapitolu.

3.1 Molekulová dynamika (MD)

Simulace časového vývoje pohybu molekul pomocí klasické molekulové dynamiky je založena na řešení Newtonových rovnic [16]

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a}_i = m_i \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2}, \quad (27)$$

kde \vec{a}_i představuje zrychlení částice i v čase. Síla \vec{F}_i působící na částici i je vyvolána interakcemi s ostatními částicemi a představuje tak součet sil \vec{F}_{ij} působící mezi částicí i a j . V takovém případě mluvíme o síle interakční $\vec{F}_{i,\text{int}}$, která je závislá na potenciálu $U_{ij}(\Delta r_{ij})$ mezi těmito částicemi

$$\vec{F}_{i,\text{int}} = \sum_{i \neq j}^N F_{ij} = -\nabla \sum_{i \neq j}^N U_{ij}(\Delta r_{ij}). \quad (28)$$

Simulovat časový vývoj všech molekul v makroskopickém systému by znamenalo řešit $N^2/2$ parciálních diferenciálních rovnic, kde $N \approx N_A$. Tento náročný problém se zjednoduší použitím velmi malého objemu (např.: $10^2 - 10^4$ částic) s tzv. periodickými okrajovými podmínkami [15], tj. podmínkami říkajícími, že pokud částice tento objem opustí z jedné strany, tak se do daného prostoru vrátí ze strany druhé.

Další z aproximací, které ve své simulaci používám, je zahrnutí rozpouštědla nikoliv jako dalších částic interagujících v systému, tzv. explicitní rozpouštědlo, nýbrž jako kontinua, ve kterém se simulované částice pohybují, tzv. implicitní rozpouštědlo [17]. Interakce s rozpouštědlem se do simulace zahrnou například jako vliv náhodné síly, třecí síly apod.

Střední hodnoty libovolných veličin X dané rovnicí 25 lze spočítat i integrací přes časový vývoj dané veličiny [15]

$$\langle X \rangle = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{t} \int_0^t X(\tau) d\tau. \quad (29)$$

Simulace se ale provádí vždy s určitým časovým kromem, takže střední hodnotu libovolné veličiny X tak lze získat diskretizací rovnice 29

$$\langle X \rangle \approx \frac{1}{t} \sum_{i=0}^t X(i\Delta t), \quad (30)$$

kde Δt označuje časový krok simulace.

3.2 Langevinův termostat

Speciálním případem řešení obecné Langevinovy rovnice 9 je tzv. Langevinova dynamika [17], pro kterou se neuvažují hydrodynamické interakce, a tudíž matice pohyblivosti \mathbf{H} je definována jako diagonální matice

$$\mathbf{H} = \frac{\mathbb{1}}{\zeta}, \quad (31)$$

kde $\mathbb{1}$ je jednotková matice. V počítačových simulacích Langevinovy dynamiky je teplota systému regulována Langevinovým termostatem, který vychází z úpravy Newtonových rovnic 27

$$\vec{F}_i = \vec{F}_{i,\text{int}} + \vec{F}_{i,\text{fr}} + \vec{F}_{i,\text{náh}}, \quad (32)$$

kde \vec{F}_i je celková síla, která ovlivňuje částici i , $\vec{F}_{i,\text{int}}$ je interakční síla vyvolaná ostatními částicemi, $\vec{F}_{i,\text{fr}}$ je frikční (třecí) síla vyvolaná rozpouštědlem a $\vec{F}_{i,\text{náh}}$ náhodná síla vyvolaná termálními fluktuacemi rozpouštědla. Frikční síla $\vec{F}_{i,\text{fr}}$ popisuje brždění částic rozpouštědlem

$$\vec{F}_{i,\text{fr}} = -\gamma_i m_i \vec{v}_i, \quad (33)$$

kde γ_i je frikční koeficient mezi částicí a rozpouštědlem. Náhodná síla $\vec{F}_{i,\text{náh}}$ společně s frikční silou $\vec{F}_{i,\text{fr}}$ tvoří termostat. V průměru je náhodná síla nulová, ale její rozptyl σ^2 je

$$\sigma^2 = 2 \frac{\gamma_i m_i k_B T}{\Delta t}. \quad (34)$$

S menším Δt je simulace přesnější, ale výpočet trvá déle. S větším Δt sice urychlíme výpočet, ale může dojít k nereálným jevům či až k explozi systému (viz dále). Langevinův termostat tak vlivem rozpouštědla brzdí a urychluje částice, čímž v průměru způsobuje fluktuace teploty kolem předem dané hodnoty. Na mikroskopické úrovni je možno teplotu definovat pomocí termodynamické rovnice [13]

$$\left\langle \frac{1}{2} \sum_i m_i |\vec{v}_i|^2 \right\rangle = \frac{3}{2} k_B T. \quad (35)$$

kde lomené závorky představují souborový průměr (viz kap. 3).

3.3 Metoda Lattice-Boltzmann

Metoda Lattice-Boltzmann je metoda, která navíc popisuje dynamické chování rozpouštědla. Proudění Newtonovské tekutiny obecně popisuje Navierova-Stokesova

rovnice

$$\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \nabla \vec{v} = -\frac{1}{\rho} \nabla p + \nu \nabla^2 \vec{v} + \vec{f}_{\text{obj}}, \quad (36)$$

kde \vec{v} značí rychlost tekutiny, p tlak, ν kinematickou viskozitu a \vec{f}_{obj} součet objemových sil, jako je třeba tíhové zrychlení apod [16]. Popis metody Lattice-Boltzmann je poněkud složitější a není hlavní náplní této práce, proto čtenáře odkazuji na speciální literaturu [18]. Já se v této práci omezím pouze na stručný popis metody.

Rovnice 36 se v metodě Lattice-Boltzmann diskretizuje tak, že se systém rozdělí mřížkou na menší buňky (lattice označuje mřížku, z angl. *lattice*), protože v počítači je jednodušší pracovat s diskrétním než spojitým prostorem. V každé buňce pak zůstává rychlost tekutiny konstantní v celém objemu a v čase se tato rychlost mění na základě interakce s okolními buňkami. Pro molekulové simulace se jednotlivým celám přidávají navíc náhodné rychlosti, představující termální fluktuační. Rozpouštědlo se charakterizuje frikčním (třecím) koeficientem γ . Disipace a termální fluktuační fungují v metodě Lattice-Boltzmann jako termostat.

Objeví-li se v dané cele explicitní částice, nastává interakce mezi touto explicitní částicí a implicitním rozpouštědlem, kdy si mezi sebou navzájem mohou předávat hybnosti. Díky přenosu hybnosti po mřížce metoda Lattice-Boltzmann zahrnuje hydrodynamické interakce, které jsou podstatné pro popis dynamiky makromolekul v roztoku.

3.4 Redukované simulační jednotky

V počítačovém světě se hodnoty ukládají pomocí binární soustavy a díky omezenému bitovému zápisu (každému číslu je přiřazen omezeně velký prostor v paměti) velkých/malých čísel může dojít k zaokrouhlovacím chybám. To je způsobeno tím, že pro každé číslo v paměti je vymezeno pouze několi bitů, a pokud se některá čísla za desetinnou čárkou do paměti již nevejdou, jsou ztracena. Vhodnější je proto ukládat hodnoty pohybující se kolem 1. Z tohoto důvodu se zavádí tzv. redukované jednotky vhodně volené tak, aby vyjadřovali charakteristické velikosti daného systému a jejich hodnota byla (řádově) 1. Například Δr_{ij} se vyjádří jako $\Delta r_{ij}/R_0$, kde R_0 je průměrná vzdálenost vazby mezi dvěma částicemi. Jiným typickým příkladem může být energie vyjádřená pomocí $k_B T$ ($U_{ij}(\Delta r_{ij}/R_0)/k_B T = 1$). Dalším důvodem pro zavedení redukovaných jednotek je, že jsou jednotky zvoleny tak, aby byly přiměřené charakteristickým rozměrům systému. Zvolíme-li $k_B T = 1$, tak je snadné pozorovat vliv termální energie, protože je-li energetická bariéra některého

přechodu větší než 1, tak k přechodu dochází snadno. S některými redukovanými jednotkami se setkáme ještě ve zbytku práce: $k_B T$, R_0 , $t = [R_0^2/6D_1]$ apod.

4 Model

4.1 Model simulovaného systému

Jak již bylo zmíněno v kap. 2, makromolekuly reprezentujeme jako model spojených kuliček, které mají určité vlastnosti. V této práci používám tzv. Rouseho model, tj. hmotné body spojené harmonickým potenciálem [12], a Kremer-Grest model, tj. kuličky spojené specifickým interakčním potenciálem a navíc popsané repulzivními interakcemi, které reprezentují vyloučený objem [17]. Tyto zhrubené modely (z angl. *coarse-grained model*) kuliček spojených pružinkou nám slouží jako kvalitativní model na popis univerzálních vlastností makromolekuly. Model systému nám obecně umožní provést více výpočtů a prozkoumat větší časovou škálu než kdybychom pracovali *ab initio*.

4.2 Interakční potenciál

Interakce mezi dvěma částicemi určuje, jak hodně se k sobě obě částice přitahují, popř. odpuzují. Pro diskuzi molekulových modelů je vhodné interakce rozdělit na vazebné, tj. dvě částice jsou spojeny chemickou vazbou (pevná vazba, harmonická vazba, FENE vazba ...), a nevazebné, tj. dvě částice nejsou spojeny chemickou vazbou (Lennardovy-Jonesovy interakce ...) [10]. Interakce, které v této práci používám, patří do skupiny tzv. krátkodosahových [15], tj. potenciál v limitě klesá rychleji než r^{-3}

$$U(\Delta r_{ij}) \sim \Delta r_{ij}^{-\xi}, \xi > 3. \quad (37)$$

V následujících odstavcích popisují interakční potenciály, které jsem použil ve svých simulacích.

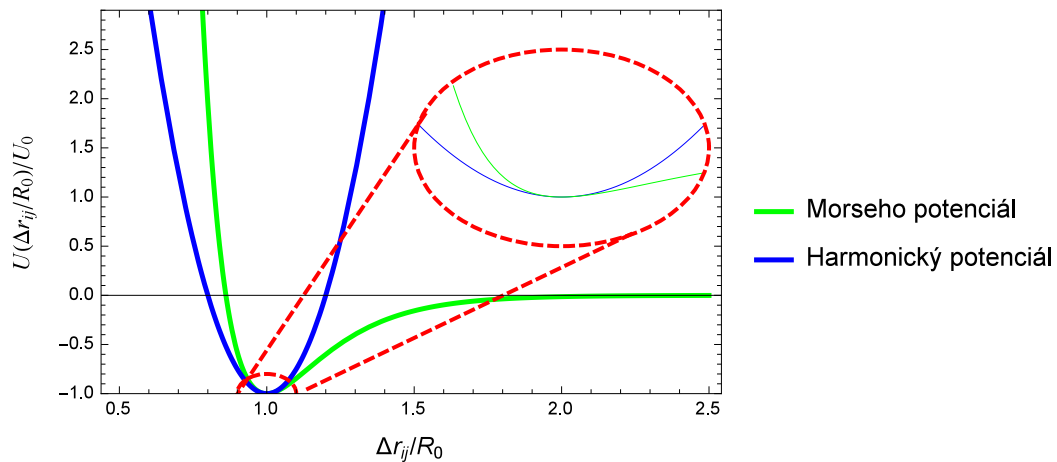
Harmonická vazba

Vibrující oscilátory (pružinky) představují jednoduchý matematický model pohybu, který rozumně popisuje chování molekulové vazby v okolí svého minima, a proto bývá velmi často využíván v počítačové chemii. My pomocí tohoto potenciálu vážeme částice Rouseho modelu. Do rovnic popisujících systém se zavádí pomocí

interakčního potenciálu $U(\Delta r_{ij})$ (viz Obrázek 5)

$$U(\Delta r_{ij}) = \frac{1}{2}k(\Delta r_{ij} - R_0)^2 - U_0, \quad (38)$$

kde konstanta úměrnosti k představuje pružnost vazby, R_0 polohu minima vazby a U_0 posun na grafu energie. Pro nás konstanta U_0 není důležitá, protože jednotlivé částice makromolekuly na sebe působí párovou silou, která je derivací potenciálu, při které se U_0 vykrátí. Každý interakční potenciál je definován až na konstantu a fyzika na této konstantě nezávisí.



Obrázek 5: Potenciál mezi dvěma částicemi spojenými harmonickou vazbou. Pro srovnání je v grafu vykreslena křivka Morseho potenciálu, která lépe popisuje interakce mezi oběma částicemi i pro větší vzdálenosti. R_0 představuje průměrnou vzdálenost částic, při které je potenciální energie ve svém minimu.

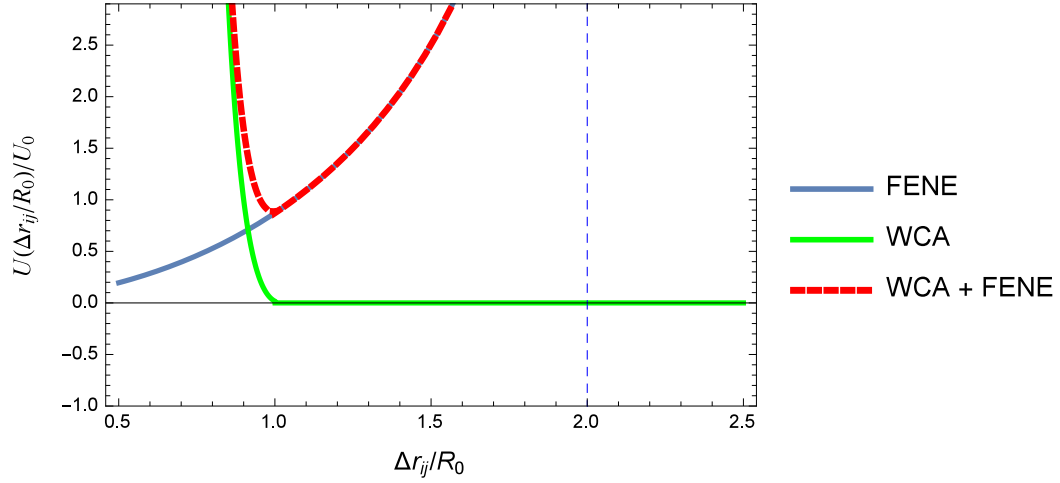
Pro přesnější popis chemické vazby i v oblastech vzdálenějších od minima lze použít potenciál Morseho oscilátoru [10]. Tento model vazby ve svých výpočtech sice nepoužívám, ale v Obrázku 5 ukazují srovnání mezi harmonickým a anharmonickým Morseho potenciálem. Každý potenciál v okolí svého minima po rozvinutí do Taylorovy řady druhého řádu přechází na rovnici harmonického oscilátoru dle rovnice 38.

FENE vazba

FENE vazba představuje jeden z příkladů anharmonického oscilátoru s omezenou délkou natažení (z angl. *finitely extensible nonlinear elastic*) [19]

$$U(\Delta r_{ij}) = \frac{1}{2}K \ln \left[1 - \left(\frac{\Delta r_{ij} - R_0}{\Delta r_{\max}} \right)^2 \right], \quad (39)$$

kde K je konstantou úměrnosti, R_0 poloha minima a Δr_{\max} je maximální délka natažení (pro naše výpočty $\Delta r_{\max} = 2$). FENE potenciál se používá jako přitažlivá vazebná síla v kombinaci s Lennardovým-Jonesovým potenciálem (viz Obrázek 6), kde R_0 se stanoví rovno 0.



Obrázek 6: Potenciál mezi dvěma částicemi ovlivněnými FENE a Weeksově-Chandlersenově-Andersenově (WCA) interakcemi. R_0 představuje energetické minimum vzdálenosti těchto dvou částic.

Lennardova-Jonesova interakce

Typickým potenciálem používaným pro zahrnutí vyloučeného objemu částic je Lennardův-Jonesův potenciál. Pro velké vzdálenosti se jedná o interakce atraktivní a pro krátké naopak o repulzivní, což zamezí výskytu dvou částic na jednom místě. Tyto interakce popisuje rovnice

$$U(\Delta r_{ij}) = 4\varepsilon \left(\left(\frac{\sigma}{\Delta r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{\Delta r_{ij}} \right)^6 \right) + U_0, \quad (40)$$

kde ε představuje hloubku potenciálové jámy a σ vzdálenost pro kterou je první člen rovnice 40 nulový.

Ve své práci používám speciální tvar Lennardových-Jonesových interakcí, který se nazývá Weeksův-Chandlerův-Andersenův (WCA) potenciál [19]. V takovém případě se nastaví maximální vzdálenost interakce r_{cut}

$$r_{\text{cut}} = 2^{\frac{1}{6}} \sigma \quad (41)$$

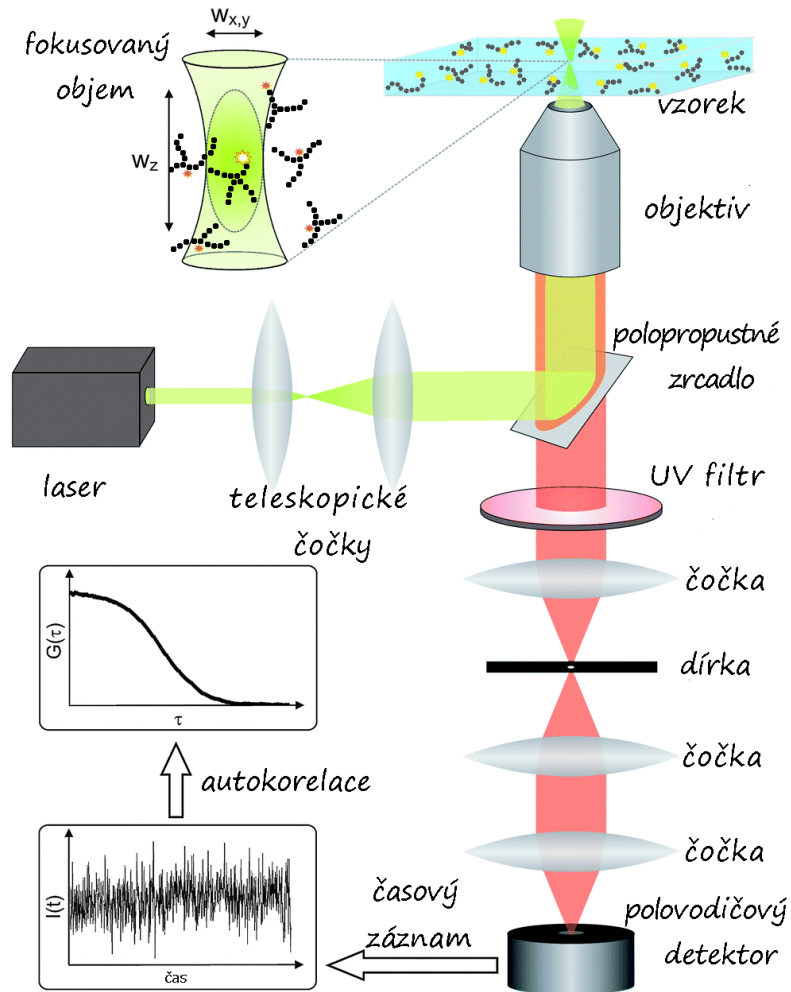
a U_0 se položí rovno ε . WCA potenciál využívám společně s FENE potenciálem jakožto generický Kremerův-Grestův model (běžně používaný v literatuře) [8] [9], který kvalitativně popisuje konektivitu a vyloučený objem makromolekul.

5 Fluorescenční korelační spektroskopie

Ve své práci se zaměřuji na výpočet středního kvadratického posunutí získaného z výpočtu odpovídajícího experimentální metodě fluorescence korelační spektroskopie (FCS, z angl. *Fluorescence Correlation Spectroscopy*) [2]. Za výzkum v oblasti fluorescence mikroskopie byla v nedávné době udělena i Nobelova cena [20]. V této kapitole se nejprve zaměřuji na pojmy fluorescence a spektroskopie a v následující kapitole ukáži, jak tuto spektroskopickou metodu popsat rovnicemi a jak získat autokorelační funkci odpovídající této metodě ze samotné trajektorie simulace bez použití experimentů.

Světlo je elektromagnetické záření, se kterým přicházíme do styku každý den. Jeho zdroji jsou například Slunce, žárovka, plamen a jiné. Dojde-li ke kontaktu světla s libovolným materiálem, může být odraženo, absorbováno, rozptýleno či může materiálem nezměněno projít. Dojde-li k absorpci jednoho či více fotonů, projeví se to excitací některé z molekul, tj. v dané molekule nastane vybuzení elektronu z nižší energetické hladiny do vyšší. Pokud nedojde k vystřelení elektronu z molekuly, může se po čase deexcitovat zpět do základního stavu za současného vyzáření fotonu, tzv. fotoluminescence, do které spadá i fluorescence [13]. Fluorescence je fyzikálně fotochemický děj, který souvisí s deexcitací elektronu z vyšší energetické hladiny do hladiny nižší doprovázené emisí fotonu (např. z 1. excitovaného stavu do základního energetického stavu). Oproti spinově zakázanému přechodu triplet-singlet, fosforescenci, se přechod singlet-singlet, fluorescence, liší dobou od fotoexcitace po jaké k procesu dochází. K fosforescenci dochází řádově až po $10^{-3} - 10^2$ s, k fluorescence řádově už po $10^{-9} - 10^{-7}$ s po fotoexcitaci. Jako chromofor se označuje molekula, která je schopná záření pohltit za excitace některého z elektronů. Existují chromofory, které jsou zároveň fluorofory, tj. molekuly schopné záření pohltit a následně emitovat záření o nižší energii formou fluorescence. Pokud jsme schopni fluorofor navázat na jinou molekulu, označíme ji tím a přítomnost takové molekuly jsme pak schopni detekovat fluorescenčními metodami. Avšak navázáním fluoroforu na molekulu se změní její vlastnosti a my tak ve skutečnosti nesledujeme samotnou molekulu, nýbrž pozorujeme a měříme systém molekula-fluorofor. Dynamické chování systému molekula-fluorofor je však odlišné od makromolekuly, proto se výsledky musí následně přepočítat na samotnou makromolekulu. Toto není problém počítačových simulací, ve kterých je trajektorie molekuly známa a není jí tak potřeba detekovat přidáním fluoroforu.

Spektroskopické metody jsou takové metody, které ke zkoumání systému používají elektromagnetické záření. Pomocí těchto metod se na vzorcích zkoumá např.: absorbance, transmitance, rozptyl apod. FCS je experimentální spektroskopická metoda měřící závislost intenzity fluorescence na čase z velmi malé oblasti roztoku (fokusovaný objem).



Obrázek 7: Schéma přístroje používaného k měření fluorescenční korelační spektroskopie (převzato z [21]).

Principem této metody je detekování přítomnosti fluoroforu ve fokusovaném objemu, který je ozařován monochromatickým laserem. Pokud se fluorofor nachází uvnitř fokusovaného objemu, může být excitován. Následně s prodlevou emituje záření o jiných vlnových délkách než jaké pohltil, proto můžeme vzorek současně ozařovat a detekovat emitované záření. V důsledku difúze částic dochází k tomu, že vstupují a vystupují z fokusovaného objemu, což má za následek kolísání intenzity záření emitovaného z roztoku, které se zachytí fotodiodami (viz Obrázek 7). Primárním výstupem z FCS měření je závislost intenzity na čase, ze které se následně počítá autokorelační funkce $G(\tau)$ definovaná jako [22]

$$G(\tau) = \left\langle I(t + \tau)I(t) \right\rangle_t \equiv \int_0^\infty I(t + \tau)I(t)dt, \quad (42)$$

kde $I(t)$ představuje intenzitu signálu v čase t .

Funkce intenzity signálu $I(t) = I(x, y, z, t)$ se aproximuje Gaussovou funkcí. Ve-

likost fokusované objemu je charakterizována rozšířením Gaussovy křivky v jednotlivých směrech $w_{xy} \times w_{xy} \times w_z$ (viz Obrázek 7). S použitím Gaussovy aproximace pro fokusovaný objem lze pro difúzi bodových částic odvodit FCS autokorelační křivku $G(\tau)$ [2] [22]

$$G(\tau) = G(0) \left(1 + \frac{\tau}{\tau_D}\right)^{-\frac{3}{2}} \left(1 + \left(\frac{w_{xy}}{w_z}\right)^2 \frac{\tau}{\tau_D}\right)^{-\frac{1}{2}}, \quad (43)$$

kde $G(0)$ značí hodnotu autokorelační funkce v čase 0 ($G(0) = 1/(V_{\text{eff}}\langle C \rangle)$), kde V_{eff} značí efektivní objem fokusovaného prostoru a $\langle C \rangle$ značí průměrnou koncentraci fluoroforů v roztoku) a τ_D difúzní čas, za který fluorofor překoná charakteristický rozměr w_{xy} [2]

$$\tau_D = \frac{w_{xy}^2}{4D}, \quad (44)$$

Vykonává-li bodová částice pouze difúzní pohyb, je rovnice 43 exaktním popisem systému. Střední kvadratické posunutí $\text{MSD}(\tau)$ lze získat z autokorelační funkce $G(\tau)$ dosazením rovnice 17 do rovnice 44 a následným dosazením do rovnice 43. Tato rovnice však platí pouze za předpokladu rovnice 17, což obecně platit nemusí vždy, proto jsme zavedli zdánlivé střední kvadratické posunutí $\text{MSD}^*(\tau)$ [4] [2]

$$G(\tau) \approx G(0) \left(1 + \frac{2\text{MSD}^*(\tau)}{3w_{xy}^2}\right)^{-\frac{3}{2}} \left(1 + \left(\frac{w_{xy}}{w_z}\right)^2 \frac{2\text{MSD}^*(\tau)}{3w_{xy}^2}\right)^{-\frac{1}{2}}. \quad (45)$$

5.1 Autokorelační funkce z trajektorie MD simulací

Ve své práci si pro zjednodušení zavádím symetrický fokusovaný objem charakterizovaný symbolem w

$$w = w_z = w_{xy}, \quad (46)$$

což nemá vliv na závěry této práce. Po spojení rovnic 43 a 46 tak dostaneme mnohem přehlednější rovnici autokorelační křivky, kterou lze zapsat jako

$$G(\tau) = G(0) \left(1 + \frac{\tau}{\tau_D}\right)^{-\frac{3}{2}}. \quad (47)$$

Stajně tak přechází rovnice 45 na

$$G(\tau) \approx G(0) \left(1 + \frac{2\text{MSD}^*(\tau)}{3w^2}\right)^{-\frac{3}{2}}. \quad (48)$$

Numerickou inverzí rovnice 48 (nebo 45) lze získat zdánlivé střední kvadratické posunutí $\text{MSD}^*(\tau)$. Dané rovnice však nelze aplikovat na systémy, které nesplňují předpoklady těchto rovnic, tj. difúze bodových částic. Aplikací těchto rovnic na modely makromolekul, jejichž částice mají vyloučený objem, případně se navzájem ovlivňují hydrodynamickými interakcemi, je velký předpoklad, že by $\text{MSD}^*(\tau)$ mohlo od pravého $\text{MSD}(\tau)$ nabývat nezanedbatelné systematické odchylky. V této práci zkoumám jak se $\text{MSD}^*(\tau)$ liší od $\text{MSD}(\tau)$ pro různé typy modelů.

Místo experimentů používám simulace. Ze simulace znám trajektorii částic, a proto jsem tak schopen spočítat autokorelační funkci pro požadovanou částici rovnou z ní pomocí rovnice [3]

$$G(\tau) = \left\langle \exp\left(-\frac{\Delta r^2(\tau)}{w^2}\right) \right\rangle. \quad (49)$$

Ve výsledku získám $G(\tau)$ z rovnice 49 a následně přepočtu na funkci $\text{MSD}^*(\tau)$ po úpravě rovnice 48

$$\text{MSD}^*(\tau) \approx \frac{3w^2}{2} \left(\left(\frac{G(\tau)}{G(0)} \right)^{\frac{2}{3}} - 1 \right) \quad (50)$$

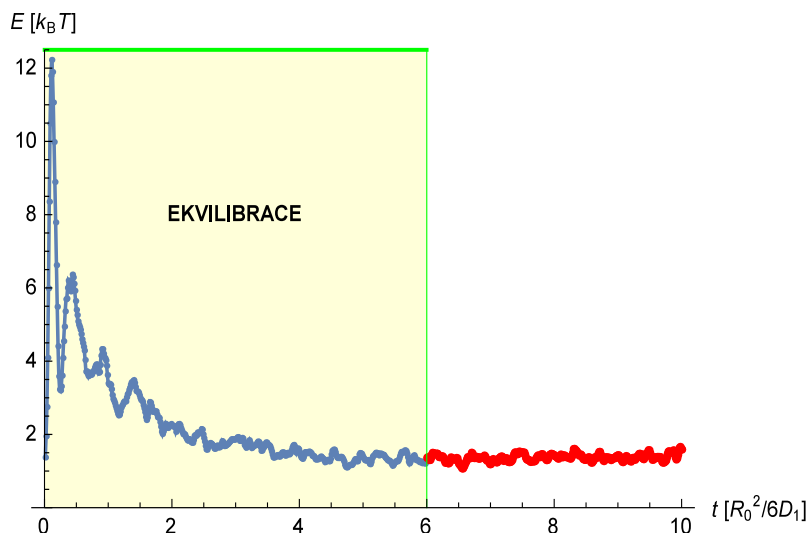
a tu následně porovnávám s opravdovou $\text{MSD}(\tau)$ získanou přímo z trajektorie podle rovnice 15

$$\text{MSD}^*(\tau) \stackrel{?}{=} \text{MSD}(\tau). \quad (51)$$

6 Výsledky a diskuze

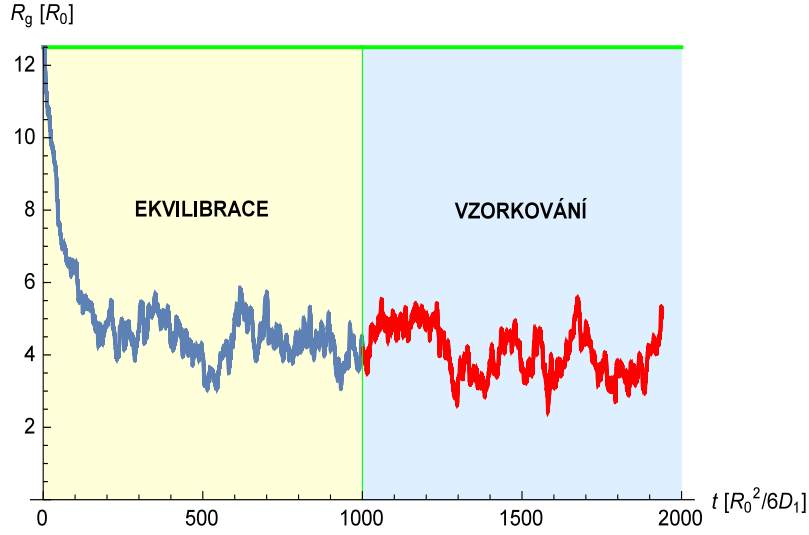
6.1 Příprava počáteční konfigurace, ekvilibrace a vzorkování

Příprava počáteční konfigurace zahrnuje zadefinování všech veličin a proměnných nutných k simulaci. V této práci provádím výpočty s makromolekulárními řetězci o délce $N = 50$ částic, což je délka řetězce, který už lze považovat za makromolekulu, ale zároveň je řetězec dostatečně krátký tak, aby výpočet nebyl časově příliš náročný, tj. aby dostatečně dlouhá simulace trvala řádově 1 den / 1 CPU (1 den výpočtů na jednom procesoru). Těchto N částic jsem se snažil rozmístit vhodným způsobem v simulačním boxu s délkou hran $L = 100 R_0$. Protože počáteční konfiguraci systému volíme náhodně, je velmi pravděpodobné, že některá interakční síla mezi dvěma částicemi bude natolik velká, že by mohlo dojít k vystřelení částic(e) z makromolekuly, tzv. exploze systému. Explozi systému zamezím tak, že na počátku nastavím maximální sílu, jakou na sebe mohou částice působit.



Obrázek 8: Závislost energie simulované makomolekuly v závislosti na čase z počáteční konfigurace systému. Oblast, ve které na počátku simulace dochází k driftu energie, tj. přibližně $6 [R_0^2/6D_1]$ je označována jako ekvilibrace energie a do zpracování dat se nezapočítává. Graf znázorňuje pouze počáteční oblast ze simulace dlouhé $10^7 [R_0^2/6D_1]$.

V počátku simulace pozoruji drift některých veličin v čase (viz Obrázek 8) a to až do té doby, než se po určitém čase specifickém pro jednotlivé veličiny ustanoví na jedné hodnotě, kolem které fluktuují. Tato oblast simulace se nazývá ekvilibrace. Počáteční konfigurace makromolekuly může být velmi nepravděpodobná a než se systém simulací uvede do oblasti blízké rovnováze, mohou některé veličiny nabývat několikanásobně odlišných hodnot než v oblasti blízké rovnováze. Nejprve jsem vy počítal krátkou simulaci, abych odhadnul jak dlouho trvá ekvilibrace všech veličin. Odtud poté zároveň zjistím o kolik musím simulaci prodloužit, abych po odečtení ekvilibrace systému dostal dostatečně dlouhou simulaci vhodnou k vzorkování. Ekvi-



Obrázek 9: Závislost gyračního poloměru simulované makomolekuly na čase z počáteční konfigurace systému. Na grafu je vidět, že počáteční hodnoty gyračního poloměru driftují a po určitém čase začnou fluktuovat kolem hodnoty cca 4 $[R_0]$. Podobně tomu bylo i na Obrázku 8 s tím rozdílem, že k ekvilibraci gyračního poloměru dochází až v simulaci dlouhé $10^3 [R_0^2/6D_1]$. Jelikož se v této práci jedná o nejpomaleji ekvilibrující veličinu, tak již lze oblast za ekvilibrací gyračního poloměru označit za vzorkovací. Graf znázorňuje pouze počáteční oblast ze simulace dlouhé $10^7 [R_0^2/6D_1]$.

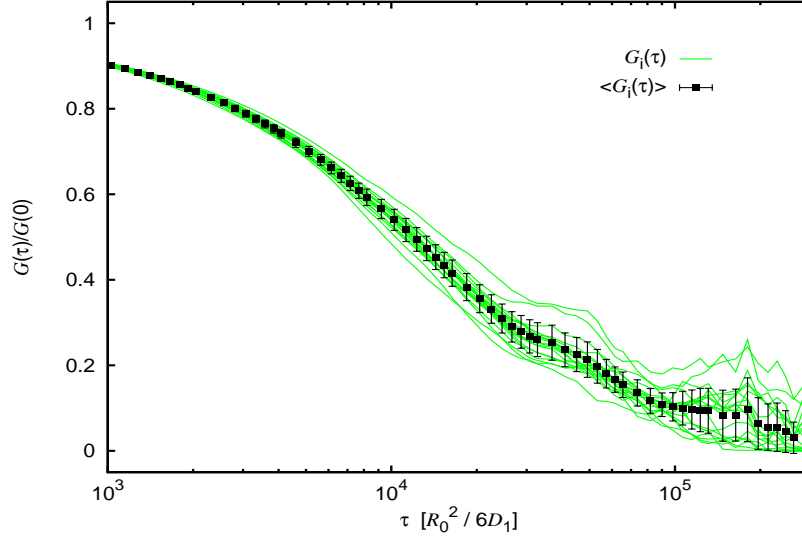
librace se ze simulace odstraní a do zpracovní výsledků se nezapočítává.

Ekvilibrujeme-li systém, je řídicím kritériem ekvilibrace nejpomalejší z veličin systému. Pro ekvilibrace mnou použitých systémů jsem jako nejpomalejší a zároveň podstatný pro mé další výsledky vyzoroval gyrační poloměr R_g , který ekvilibruje asi stokrát pomaleji než celková energie systému (viz Obrázek 9), tj. oproti energii, která zekvilibrovala přibližně po 6 $[R_0^2/6D_1]$, R_g je zekvilibrováno až po $10^3 [R_0^2/6D_1]$. Určit přesnou hranici ekvilibrace není zrovna snadno splnitelný úkol. V této práci ekvilibraci určuji pouze odhadem „okometricky“, tj. provedu celou simulaci a počáteční část, kterou považuji za neekvilibrovanou, vyřadím z celkové analýzy systému.

Oblast simulace za ekvilibrací v Obrázku 9 jsem označil jako vzorkovací. Data získaná ve vzorkovací oblasti simulace i se použijí pro výpočet časových průměrů $\langle X \rangle_i$ pro veličinu X

$$\langle X \rangle_i = \frac{1}{k_{\text{sim}}} \sum_{j=1}^{k_{\text{sim}}} X(j), \quad (52)$$

kde k_{sim} značí počet kroků simulace. Výsledky simulace by neměly být závislé na počátečních podmínkách simulace. Pro kontrolu proto provádím 20 simulací s odlišnými počátečními konfiguracemi systému, čímž docílím 20-ti různých realizací, které vzhledem k sobě můžu považovat za statisticky nezávislé a tak je i statisticky



Obrázek 10: Statistické zpracování křivek $G_i(\tau)/G(0)$ ze 20-ti nezávislých realizací simulace (zelené křivky). Z těchto realizací jsem vypočetl souborový průměr znázorněný černými body a charakterizovaný směrodatnou odchylkou, což je znázorněno pomocí černých chybových úseček.

porovnávat. Souborový průměr $\langle X \rangle$ veličiny X získávám z jednotlivých realizací časových průměrů $\langle X \rangle_i$, kde i označuje realizaci simulace z celkových n simulací, podle rovnice

$$\langle X \rangle = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \langle X \rangle_i. \quad (53)$$

Směrodatnou výběrovou odchylku průměru σ_X určuji z rovnice

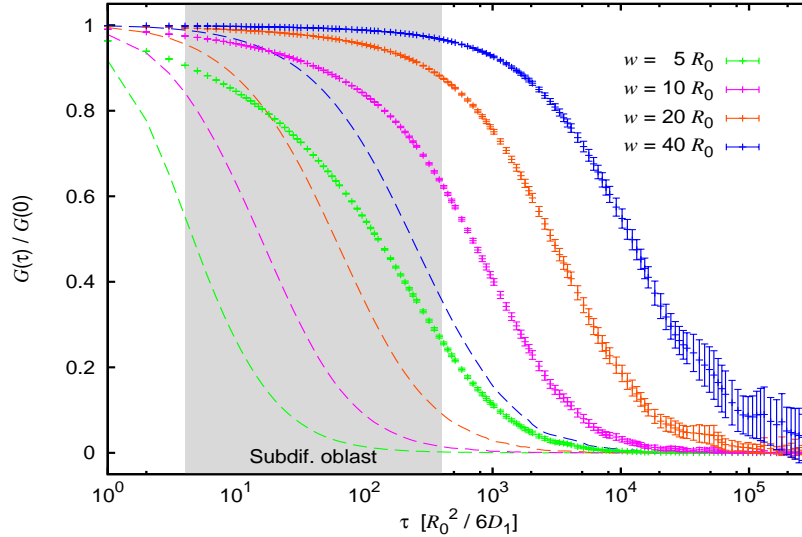
$$\sigma_X^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\langle X \rangle_i - \langle X \rangle)^2. \quad (54)$$

Výslednou křivku dané veličiny následně vynáším jako body určující souborový průměr $\langle X \rangle$. Směrodatnou výběrovou odchylku σ_X daných bodů vykresluji jako úsečky o velikosti 2σ , jejichž střed leží na souborovém průměru (viz Obrázek 10).

6.2 Rouseho model

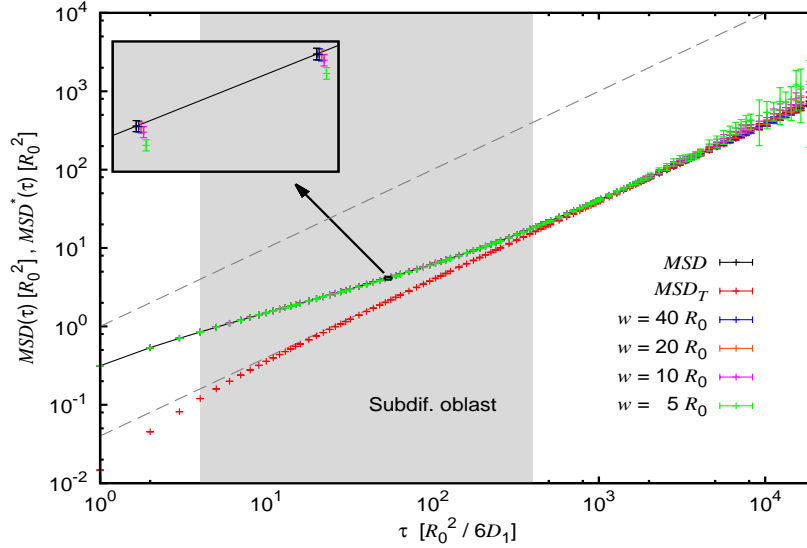
Nejjednodušší ze mnou použitých simulačních modelů je Rouseho model: 50 bodových částic spojených harmonickým potenciálem. 20 různých realizací jsem simuloval za využití Langevinova termostatu.

Z trajektorie všech částic v simulaci jsem podle rovnice 49 počítal autokorelační funkci $G(\tau)$ (viz Obrázek 11), jak by byla experimentálně měřena FCS metodou.



Obrázek 11: FCS autokorelační křivky získané z trajektorie částic Rouseho modelu pro několik vybraných fokusovaných objemů pro srovnání. Čárkovanými čárami jsou zobrazeny autokorelační křivky pro jednu samostatnou částici při různých fokusovaných objemech, které se liší pouze posunutím ve směru osy τ . Stejnými barvami jsou zobrazeny i statisticky zpracované autokorelační křivky pro částice makromolekuly, které jsou oproti křivkám samostatných částic posunuté, ale pro menší fokusované objemy i značně zdeformovány. Šedě je vyznačena subdifúzní oblast, která je lépe popsána až v Obrázku 12.

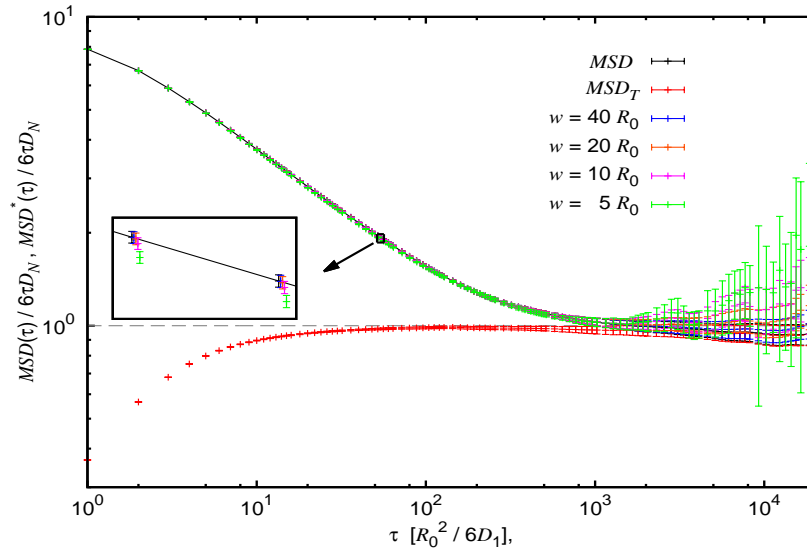
Autokorelační křivka částic na konci řetězce a ve středu se liší velmi málo, proto tento rozdíl zanedbávám a průměrnou hodnotu autokorelační funkce každé realizace počítám jako průměr autokorelačních křivek jednotlivých částic. $MSD^*(\tau)$ by dle předpokladu mělo být nezávislé na velikosti fokusovaném objemu. Experimentálně by se vliv velikosti fokusovaného objemu na $MSD^*(\tau)$ pozoroval změnou délky řetězce makromolekuly, ale já čistě z technických důvodů počítám s různými charakteristickými hodnotami fokusovaných objemů. Tyto hodnoty jsem zvolil tak, abych zahrnul výpočty jak pro větší fokusované objemy než je velikost makromolekuly, tak i pro velikosti srovnatelné s makromolekulou. Důvodem je předpoklad, že pro fokusované objemy srovnatelné s velikostí makromolekuly očekávám méně přesné výsledky. Vycházím z analogie optických mikroskopů charakterizovaných mezí přesnosti. Při měření různě velikých částic v systému jsem schopen pozorovat pouze částice o velikosti větší než je vlnová délka záření. Pro prostou difúzi jedné částice simulovanou Langevinovým termostatem se tvar autokorelační funkce s hodnotou w nemění, pouze dochází k posunu ve směru osy τ (viz Obrázek 11). Autokorelační funkce makromolekuly ukazuje, že částice jsou samy se sebou korelovány řádově déle než při normální difúzi samostatné částice. Zároveň dochází k deformaci této křivky, která není pro všechny fokusované objemy úplně stejná. Tato změna autokorelační křivky indikuje proces složitější než je normální difúze částice. K největší změně dochází v subdifúzní oblasti, kterou jsem určil z Obrázku 12, což zatím na grafu autokorelační funkce není úplně pozorovatelné. Počet vzorků klesá s rostoucím časem, což je pozorovatelné na rostoucí statistické chybě autokorelační funkce pro větší časové intervaly.



Obrázek 12: Zdánlivé střední kvadratické posunutí vypočtené z autokorelační funkce $MSD^*(\tau)$ a ze samotné trajektorie simulace $MSD(\tau)$ pro Rouseho model. Střední kvadratické posunutí jednotlivých částic MSD se postupně vzdaluje od přímky $6\tau D_1$ charakteristické pro limitní difúzi jedné částice a pomalu konverguje k MSD_T (šedě vyznačená subdifúzní oblast). MSD^* pro různé hodnoty w jsou zobrazeny barevnými body a téměř kopírují MSD . Systematická odchylka mezi MSD^* a MSD je více pozorovatelná pro menší fokusované objemy, avšak je srovnatelná se statistickou chybou dat.

Zdánlivé střední kvadratické posunutí $MSD^*(\tau)$ počítám z jednotlivých autokorelačních funkcí a porovnávám je se skutečným středním kvadratickým posunutím $MSD(\tau)$ získaným přímo z trajektorie simulace (viz Obrázek 12). Funkce $MSD^*(\tau)$ téměř kopíruje funkci $MSD(\tau)$, ale pro hodnoty menší než je R_g^2 , kde $R_g = (1.9 \pm 0.5) [R_0]$, je na grafu vidět drobná systematická odchylka a to především pro menší fokusované objemy. Ta je ale řádově srovnatelná se statistickou chybou dat. Tato drobná chyba je způsobena pro krátké časové intervaly právě z důvodu zanedbání limity při výpočtu $MSD^*(\tau)$ z $G(\tau)$. Střední kvadratické posunutí této částice přechází mezi dvěma limitními případy, jedním z nich je střední kvadratické posunutí samostatné částice a druhým je střední kvadratické posunutí těžiště makromolekuly, které je v rámci Rouseho aproximace stejné jako střední kvadratické posunutí částice s 50-krát menším difúzním koeficientem. Oblast grafu, kde se střední kvadratické posunutí posouvá od jedné limity ke druhé, označuji jako subdifúzní oblast. Konvergence $MSD(\tau)$ k funkci $6\tau D_N$ by mohla být na logaritmickém měřítku pouze zdánlivá, a proto je výhodné si zobrazit funkci $MSD(\tau)$, resp. $MSD^*(\tau)$ jako $MSD(\tau)/6\tau D_N$, resp. $MSD^*(\tau)/6\tau D_N$ (viz Obrázek 13), čímž můžeme pozorovat konvergenci k jedničce, a zároveň je lépe vidět, že subdifúzní oblast opravdu končí přibližně při $10^3 [R_0^2/6D_1]$.

Rozdíl mezi $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ je z grafů na Obrázcích 12 i 13 téměř nepozorovatelný a zvětšující okénka grafů naznačují, že rozdíl mezi $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ je pro větší fokusované objemy zjevně větší než je statistická chyba dat. Podíl funkcí $MSD(\tau)$ a $MSD^*(\tau)$ by v ideálním případě kopíroval konstantní funkci 1, což naše si-



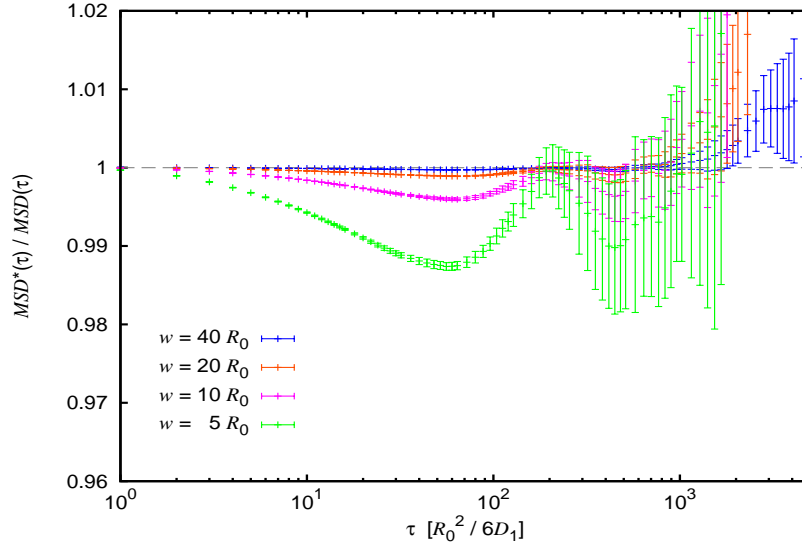
Obrázek 13: Zdánlivé střední kvadratické posunutí vypočtené z autokorelační funkce $MSD^*(\tau)$ a ze samotné trajektorie simulace $MSD(\tau)$ pro Rouseho model vydělené lineární funkcí $6\tau D_N$. Konvergence ke konstantě je lépe pozorovatelná, než konvergence k lineární funkci na logaritmickém měřítku, tak jako je tomu u Obrázku 12.

mulace splňuje pouze přibližně (viz Obrázek 14). Z podílů funkcí $MSD(\tau)$ a $MSD^*(\tau)$ je vidět, že systematická odchylka od jedné je pro větší fokusované objemy až řádově větší než statistická chyba dat. Je totiž způsobena právě aproximací rovnice 17, což se projeví především v subdifúzní oblasti makromolekuly. Systematická odchylka by pro exaktně platící vztah popsany rovnicí 45 neměla záviset na velikosti fokusovaného objemu, ale z grafu podílů $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ je patrné, že systematická odchylka je větší pro menší fokusované objemy. Pro všechny fokusované objemy je systematická odchylka menší než jedno procento, která je pro experimentální praxi zanedbatelná. Pro simulace, které zahrnují vyloučený objem části, jako je v této práci Kremerův-Grestův model s Langevinovým termostatem, či simulace zahrnující hydrodynamické interakce, v této práci používám Kremerův-Grestův model s hydrodynamikou Lattice-Boltzmann, očekávám systematické odchylky několikanásobně větší než u Rouseho modelu.

6.3 Kremerův-Grestův model

Pro popis makromolekuly s vyloučeným objemem jsem zvolil Kremerův-Grestův model [17]. Jako Kremerův-Grestův model v této práci označuji částice vázané nelineárním FENE potenciálem s vyloučeným objemem popsany WCA interakcemi. Pro simulace používám Langevinův termostát, takže v simulaci zatím nejsou zahrnuty hydrodynamické interakce.

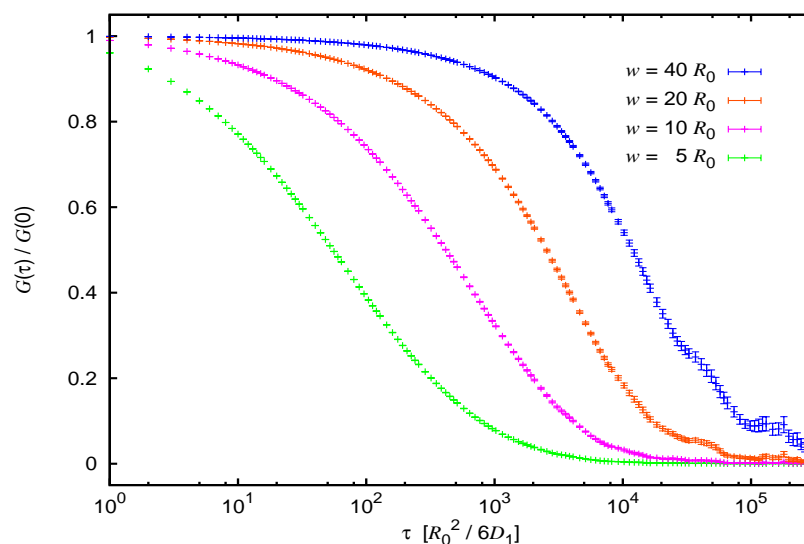
Jelikož tento model není výpočetně velmi náročný, můžu si dovolit simulaci při-



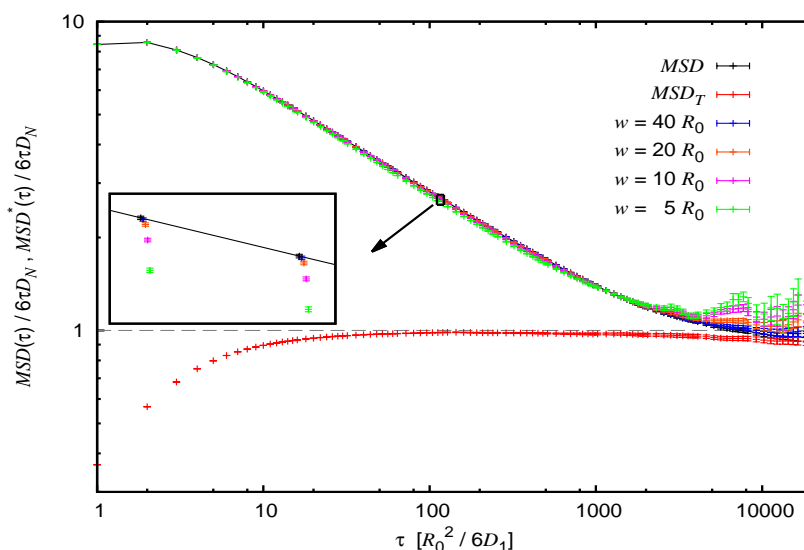
Obrázek 14: Podíl $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ při různých fokusovaných objemech pro Rouseho model. Černou čárkovanou čarou je zobrazen ideální případ, ve kterém by $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ byli naprosto stejné.

blíže dlouhou jako pro Rouseho model, tj. řádově $10^8 [R_0^2/6D_1]$, která výpočetně zabere přibližně 1 den / 1 CPU (1 den výpočtů na jednom procesoru). V kontextu délky časové škály jsem si poprvé u tohoto modelu všimnul zvláštního jevu pro dlouhé časové intervaly, který je pozorovatelný na autokorelační funkci $G(\tau)$ v oblasti $10^5 [R_0^2/6D_1]$ (viz Obrázek 15). V této oblasti všechny křivky autokorelační funkce vytváří zub, který nemá žádné fyzikální vysvětlení, na jinak očekávané monotónně klesající křivce. U animace makromolekuly v prostoru v závislosti na čase jsem zjistil, že pro krátké časové intervaly se částice makromolekuly pohybují náhodně, ale pro dlouhé časové intervaly preferuje pouze určité směry. Posléze jsem zjistil, že tento defekt způsobuje generátor náhodných čísel. Každý generátor náhodných čísel má totiž periodu a již při zlomku této periody začnou být náhodná čísla korelovaná. V softwaru Espresso byl zabudovaný 32-bitový generátor náhodných čísel, který má periodu blízkou počtu integračních kroků celé mé simulace. Jako vedlejší produkt této práce je, že jsme generátor náhodných čísel společně s vedoucím práce přepsali na 64-bitový. Tento defekt na autokorelační křivce naštěstí neruší naše výsledky. Rozdíl $MSD(\tau)$ a $MSD^*(\tau)$ (viz Obrázek 16) vykazuje systematickou odchylku především v oblasti 10^1 - $10^4 [R_0^2/6D_1]$, tj. v oblasti, kde je střední kvadratické posunutí částice menší než R_g^2 , kde $R_g = (5.1 \pm 0.9) [R_0]$. $MSD(\tau)$ a $MSD^*(\tau)$ se pro Kremerův-Grestův model ve svém tvaru trochu liší od Rouseho modelu, což je dáno vyloučeným objemem. Systematická odchylka mezi $MSD(\tau)$ a $MSD^*(\tau)$ je pozorovatelná již na Obrázku 16 a vzhledem ke statistické chybě je výrazně větší.

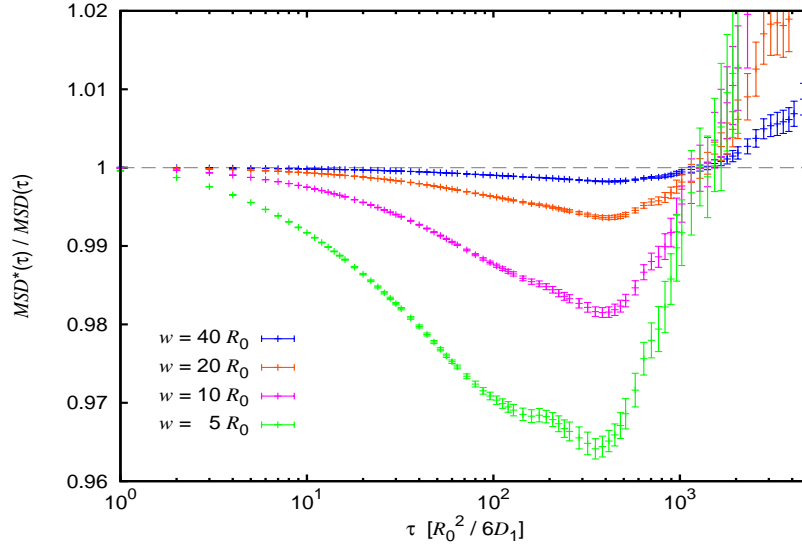
Podíl funkcí $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ (viz Obrázek 17) nabývá systematické odchylky maximálně přibližně čtyř procent. Největší systematickou odchylku vykazuje nejmenší fokusovaný objem, stejně tak jako tomu bylo u Rouseho modelu. Pro fokusovaný objem o $w = 40 R_0$ je křivka velmi blízko ideálnímu případu. S klesající velikostí fokusovaného objemu se systematická odchylka od ideální případů zvět-



Obrázek 15: FCS autokorelační křivky ze simulace Kremerova-Grestova modelu s Langevinovým termostatem pro různé fokusované objemy. Oproti Obrázku 11 není na první pohled vidět žádný velký rozdíl. Na časové škále $10^5 [R_0^2/6D_1]$ je pozorovatelný zub, který je způsoben nevhodným generátorem náhodných čísel.



Obrázek 16: Zdánlivé střední kvadratické posunutí vypočtené z autokorelační funkce $MSD^*(\tau)$ a ze samotné trajektorie simulace $MSD(\tau)$ pro Kremerův-Grestův model s Langevinovým termostatem vydělené lineární funkcí $6\tau D_N$. Červenými body je vyznačeno střední kvadratické posunutí těžiště makromolekuly, které až na velmi krátké časové intervaly, kopíruje konstantu jedna, která je pro dlouhé časové intervaly limitou i pro zbylá střední kvadratická posunutí.



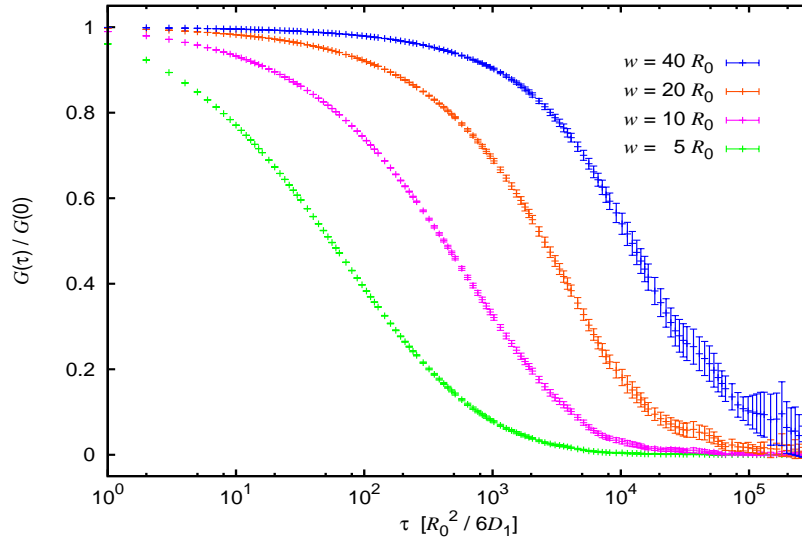
Obrázek 17: Podíl $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ při různých fokusovaných objemech pro model Kremer-Grest za využití Langevinova termostatu. Černou čárkovanou čarou je zobrazen ideální případ, ve kterém by $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ byli naprosto stejné.

šuje a to až 4-krát více než u Rouseho modelu. Pro všechny fokusované objemy v Obrázku 17 je systematická odchylka podílů $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ menší než čtyři procenta.

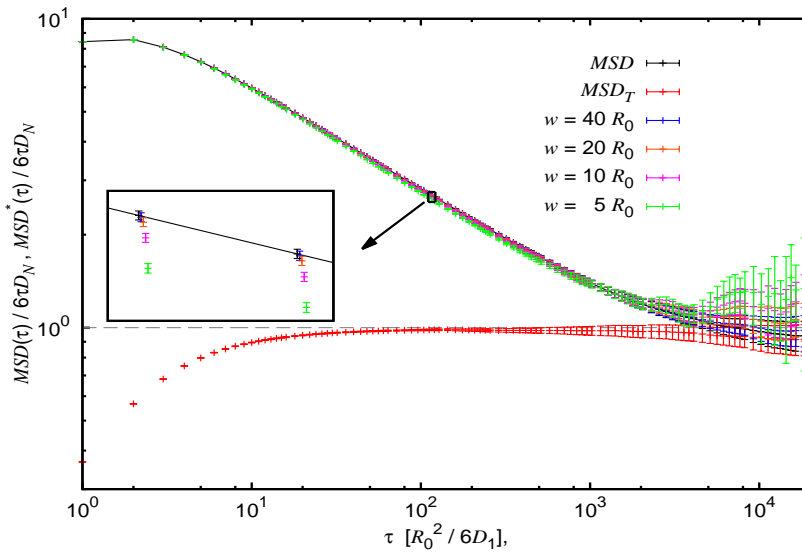
6.4 Model s hydrodynamickými interakcemi

Kremerův-Grestův model s Langevinovým termostatem v sobě nezahrnoval hydrodynamické interakce, proto jsem zvolil ještě jednu metodu, která hydrodynamické interakce zahrnuje. Model Kremer-Grest simulují společně s metodou Lattice-Boltzmann, který hydrodynamické interakce zahrnuje. Tento přístup nebyl v naší laboratoři doposud používán, a proto bylo mým úkolem se s touto metodou seznámit a prozkoumat její vlastnosti. Výpočtům nutným k této práci předcházeli výpočty závislosti na jednotlivých parametrech (velikost buněk, viskozita rozpouštědla apod.), které mi sloužili k lepšímu porozumění metody. Na jejich základě jsem pro molekulovou dynamiku zvolil parametry charakterizující rozpouštědlo: velikost buněk mřížky $a = 1 [R_0]$, dynamickou viskozitu rozpouštědla $\eta = 1 [D_1]$, frikční koeficient $\gamma = 1$.

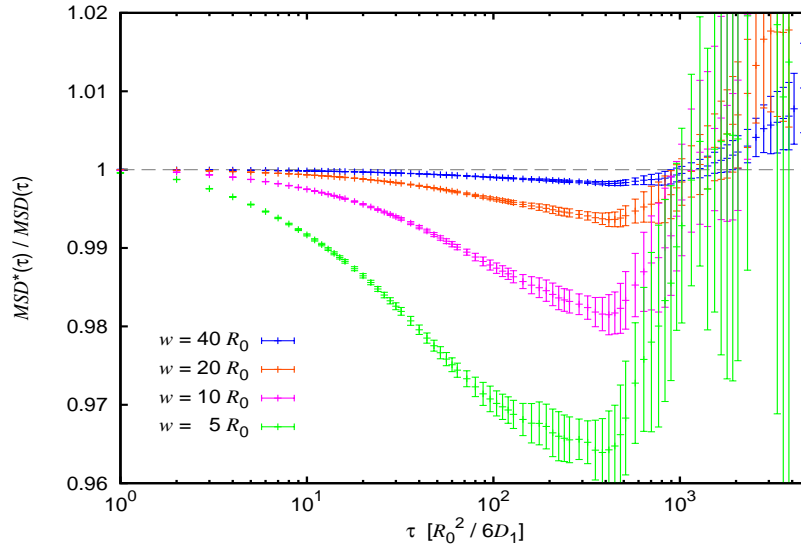
Výpočet zahrnující hydrodynamické interakce je časově náročnější na výpočet, proto jsme použil desetkrát kratší simulace než pro Rouseho a Kremerův-Grestův model. To se projevilo především na statistických chybách. Výpočet trval opět přibližně 1 den / 1 CPU (1 den výpočtů na 1 procesorů). FCS autokorelační funkce je opět podobná jako u předchozích metod (viz Obrázek 19) a na základě autokorelačních křivek prozatím nemůžeme diskutovat vliv hydrodynamických interakcí



Obrázek 18: FCS autokorelační křivky ze simulace Kremerova-Grestova modelu s hydrodynamickými interakcemi pro různé fokusované objemy. Oproti Obrázkům 11 a 15 není na první pohled vidět žádný velký rozdíl až na statistickou chybu, která je způsobena kratší simulací, tj. menším počtem vzorků.



Obrázek 19: Zdánlivé střední kvadratické posunutí vypočtené z autokorelační funkce $MSD^*(\tau)$ a ze samotné trajektorie simulace $MSD(\tau)$ pro Kremerův-Grestův model s hydrodynamickými interakcemi vydělené lineární funkcí $6\tau D_N$. Červenými body je vyznačeno střední kvadratické posunutí těžiště makromolekuly, které až na velmi krátké časové intervaly, kopíruje konstantu jedna, která je pro dlouhé časové intervaly limitou i pro zbylá střední kvadratická posunutí. Již na tomto grafu je pozorovatelná systematická odchylka mezi $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$, která je oproti předchozím modelům zatížená větší statistickou chybou, která je způsobena kratší simulací, tj. menším počtem vzorků.



Obrázek 20: Podíl $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ při různých fokusovaných objemech pro Kremerův-Grestův při zahrnutí hydrodynamických interakcí. Černou čárkovanou čarou je zobrazen ideální případ, ve kterém by $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ byli naprosto stejné. Graf je velmi podobný 17 až na statistické odchylky, které jsou větší z důvodu kratší simulace, tj. méně vzorků.

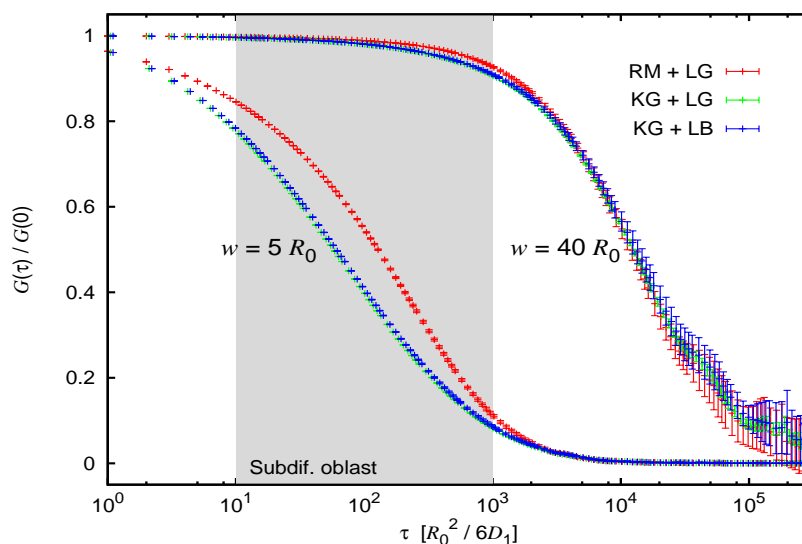
na dynamiku makromolekuly.

Závislost $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ (viz Obrázek 19) je opět podobná předchozím výsledkům až na horší statistické odhady. Podíl $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ se opět podobá výsledkům Kremerova-Grestova modelu (viz Obrázek 20). Na těchto základech můžeme říct, že hydrodynamické interakce ovlivňují podíl $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ téměř nepozorovatelně. To je ale v rozporu s očekáváním a s teorií [12]. Pravděpodobně je to způsobeno krátkou makromolekulou, pro kterou hydrodynamické interakce mezi konci řetězce nemají tak výrazný vliv jako je tomu u delších řetězců.

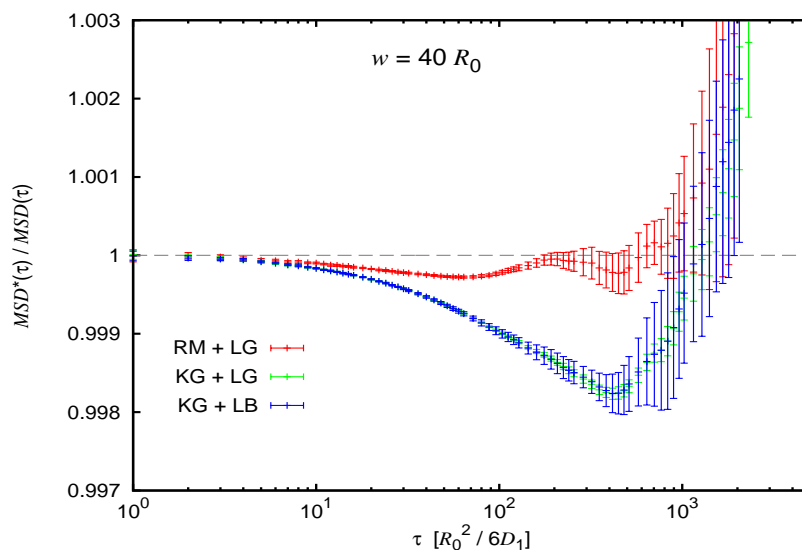
6.5 Srovnání všech modelů

Výpočet zdánlivého středního kvadratického posunutí vypočteného z autokorelační funkce $MSD^*(\tau)$ jsem porovnal pro různé modely se středním kvadratickým posunutím získaném ze samotné trajektorie $MSD(\tau)$. Pro jednotlivé modely jsem ukázal závislost systematické odchylky na velikosti fokusovaného objemu w a na čase τ . V této kapitole se věnuji srovnání mezi jednotlivými modely.

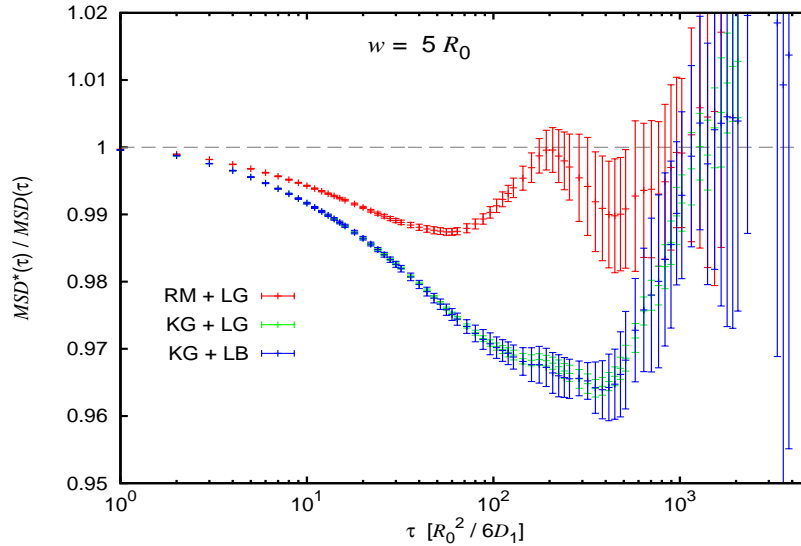
FCS autokorelační křivky v Obrázku 21 jsou pro Kremerův-Grestův model bez hydrodynamických interakcí a pro Kremerův-Grestův model s hydrodynamickými interakcemi velmi podobné, ale oba modely se výrazně liší od Rouseho modelu a to především v subdifúzní oblasti. Pro fokusovaný obem $w = 40 R_0$ je rozdíl špatně pozorovatelný, protože v subdifúzní oblasti je autokorelační funkce $G(\tau)$ velmi blízká



Obrázek 21: FCS autokorelační křivky pro dva různé fokusované objemy při použití různých modelů v simulaci. RM + LG značí Rouseho model s Langevinovým termostatem. KG + LG, Kremerův-Grestův model s Langevinovým termostatem, i KG + LB, Kremerův-Grestův model s hydrodynamickými interakcemi Lattice-Boltzmann, se navzájem téměř shodují, ale od Rouseho modelu se díky vyloučenému objemu a hydrodynamickým interakcím odlišují. Ke změně difúzního procesu dochází především v subdifúzní oblasti.



Obrázek 22: Podíly $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ pro fokusovaný objem $w = 40 R_0$ pro různé modely simulace. RM + LG značí Rouseho model s Langevinovým termostatem, KG + LG značí Kremerův-Grestův model s Langevinovým termostatem a KG + LB značí Kremerův-Grestův model s hydrodynamickými interakcemi Lattice-Boltzmann.



Obrázek 23: Podíly $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ pro fokusovaný objem $w = 5 R_0$ pro různé modely simulace. RM + LG značí Rouseho model s Langevinovým termostatem, KG + LG značí Kremerův-Grestův model s Langevinovým termostatem a KG + LB značí Kremerův-Grestův model s hydrodynamickými interakcemi Lattice-Boltzmann.

1.0. Pro menší fokusovaný objem $w = 5 R_0$ je změna vlivem vyloučeného objemu a hydrodynamických interakcí velmi dobře pozorovatelná. Pro další srovnání použijí právě charakteristické velikosti fokusovaných objemů o rozměrech $5 R_0$ a $40 R_0$. Odlišnosti mezi jednotlivými metodami jsou způsobeny právě vyloučeným objemem a hydrodynamickými interakcemi, které pozmění dynamické vlastnosti makromolekuly. Mezi Kremerovým-Grestovým modelem s Langevinovým termostatem a s hydrodynamikou Lattice-Boltzmann podle očekávání a teorie měl být také rozdíl, ale křivky se téměř shodují. Důvodem je nejspíše krátký řetězec makromolekuly, pro který jsou hydrodynamické interakce ještě málo výrazné. Střední kvadratická posunutí $MSD(\tau)$ Kremerových-Grestových modelů bez hydrodynamických interakcí i s hydrodynamickými interakcemi se opět velmi podobají, ale oba modely se liší od Rouseho modelu. Zdánlivá střední kvadratická posunutí spočtená z FCS autokorelační funkce $MSD^*(\tau)$ téměř kopírují svou $MSD(\tau)$. Podíly $MSD^*(\tau)$ a $MSD(\tau)$ mají nejmenší systematickou odchylku od jedničky pro větší fokusované objemy (viz Obrázek 22). Systematické odchylky jsou pro fokusované objemy, jejichž charakteristická velikost je řádově větší než gyračním poloměr R_g makromolekuly, menší než 0.2 procenta. Systematická odchylka menší než jedno procento většinu výpočtů $MSD^*(\tau)$ z FCS experimentů neovlivní. Pro fokusované objemy, které jsou srovnatelné s R_g je systematická odchylka $MSD^*(\tau)$ mnohem větší (viz Obrázek 23). Pro Rouseho model je systematická odchylka přibližně jedno procento. Pro Kremerův-Grestův model jak s Langevinovým termostatem, tak hydrodynamikou Lattice-Boltzmann, je systematická odchylka velká až čtyři procenta.

7 Závěr

V této práci jsem porovnával dynamické chování částic makromolekuly získané jako zdánlivé střední kvadratické posunutí z FCS autokorelační funkce $MSD^*(\tau)$ se středním kvadratickým posunutím získaným z trajektorie simulace $MSD(\tau)$. Numericky jsem ověřil, že rovnice běžně používaná k výpočtům $MSD^*(\tau)$ z experimentální metody fluorescenční korelační spektroskopie se pro odlišné charakteristické velikosti fokusovaného objemu liší. Kdyby rovnice na výpočet $MSD^*(\tau)$ platila exaktně, nebyl by výsledek závislý na použitém fokusovaném objemu. Ukázal jsem, že použiji-li fokusovaný objem, jehož charakteristická velikost je větší než velikost makromolekuly, získáme výsledky, které se od správných výsledků systematicky liší o méně než jedno procento. Touto prací jsem hlavně dokázal, že pro charakteristické velikosti fokusovaných objemů srovnatelných s velikostí makromolekuly se výsledky od správných hodnot systematicky liší až o několik procent. Znamená to, že experimentální měření prováděné metodou fluorescenční korelační spektroskopie získá přepočtem z autokorelační funkce $G(\tau)$ na $MSD^*(\tau)$ pro makromolekulární součenniny nezanedbatelnou systematickou odchylku. Systematická odchylka pochází ze zanedbání předpokladů pro rovnici 45. Velikost této systematické odchylky jsem ověřoval simulacemi některých modelů. Pro Rouseho model, který by měl splňovat většinu předpokladů, jsou systematické odchylky pro všechny použité fokusované objemy menší než jedno procento. Jelikož Rouseho aproximace nedává správné výsledky pro difúzi makromolekul ve zředěném roztoku, tak jsem se rozhodnul použít i jiné modely. Pro popis systému s vyloučeným objemem jsem použil Kremerův-Grestův model s Langevinovým termostatem a s hydrodynamikou metody Lattice-Boltzmann. Všechny výsledky z obou simulací byly kvalitativně podobné. Systematická odchylka $MSD^*(\tau)$ od $MSD(\tau)$ pro fokusované objemy srovnatelné s velikostí makromolekuly dosahuje v obou případech až čtyř procent. Předpokládám, že pokud bych použil delší řetězce makromolekul, docílil bych lepší separace režimu pouze s vyloučeným objemem a s hydrodynamickými interakcemi. V této práci jsem ověřil, že rovnice pro výpočet zdánlivého středního kvadratického posunutí z FCS autokorelační funkce je zatížena systematickou odchylkou, která roste se zmenšujícím se fokusovaným objemem. Systematická odchylka, která může být až několik procent bude v experimentech nejspíše srovnatelná se statistickou chybou experimentů.

8 Literatura

- [1] E. Haustein and P. Schwille. Fluorescence correlation spectroscopy: Novel variations of an established technique. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 36:151, 2007.
- [2] P. Schwille and E. Haustein. *Fluorescence Correlation Spectroscopy - An Introduction to its Concepts and Applications*, volume 94. 2009.
- [3] F. Höfling, K.-U. Bamberg, and T. Franosch. Anomalous transport resolved in space and time by fluorescence correlation spectroscopy. 2010.
- [4] R. Shusterman, S. Alon, T. Gavrinov, and O. Krichevsky. Monomer dynamics in double- and single-stranded dna polymers. *Phys.Rev.Lett.*, 92(4):1 – 3, 2004.
- [5] J. K. G. Dhont, G. Gompper, and D. Richter. *Complex Materials on Mesoscopic Scales*, volume 10. 2002.
- [6] Soft matter research group. <http://web.natur.cuni.cz/~kosovan1/softmatter/>. [Online, accessed: 2015-05-24].
- [7] J. Vohlídal. *Makromolekulární chemie*. Karolinum, 1995.
- [8] Michael Rubinstein and Ralph H. Colby. *Polymer Physics*. Oxford University Press, Oxford, UK, 2003.
- [9] P. G. de Gennes. *Scaling Concepts in Polymer Physics*. Cornell University Press, Ithaca, NY, 1979.
- [10] J. Novák a kol. *Fyzikální chemie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2004.
- [11] G. M. Schutz. Complex materials on mesoscopic scales. *Soft Matter*, 10(1):C.1 – C.18, 2002.
- [12] M Doi and S F Edwards. *The theory of polymer dynamics*. Oxford Science Publications, 1986.
- [13] P. Atkins and J. de Paula. *Fyzikální chemie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013.
- [14] I. M. Sokolov. Models of anomalous diffusion in crowded environments. *Soft Matter*, 8:9043, 2012.
- [15] I. Nezbeda, J. Kolafa, a M. Kotrla. *Úvod do počítačových simulací. Metody Monte Carlo a molekulové dynamiky*. Karolinum, 1998.

- [16] J. Kvasnica, A. Havránek, P. Lukáč, and B. Sprušil. *Mechanika*. Academia, 2004.
- [17] Gary S. Grest and Kurt Kremer. Molecular dynamics simulation for polymers in the presence of a heat bath. *Phys. Rev. A*, 33(5):3628–31, 1986.
- [18] B. Dunweg and A. J. C. Ladd. *Lattice Boltzmann Simulations of Soft Matter Systems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008.
- [19] Espresso user’s guide. <http://espressomd.org/jenkins/job/master-doc/lastSuccessfulBuild/artifact/doc/ug/ug.pdf>. [Online, accessed: 2015-05-24].
- [20] Nobel prizes 2014 - the winners. <http://www.theguardian.com/world/2014/oct/13/nobel-prizes-2014-the-winners>. [Online, accessed: 2015-05-28].
- [21] Fluorescence correlation spectroscopy. <http://cam.facilities.northwestern.edu/588-2/fluorescence-correlation-spectroscopy/>, 2011. [Online, accessed: 2015-05-24].
- [22] B. J. Berne and R. Pecora. *Dynamic Light Scattering*. John Wiley, New York, 1976.