

Stoffsammlung Biophysik

Nach der Vorlesung *Biophysik (PH0020)* von Prof. Matthias Rief
und Prof. Martin Zacharias im SS20

Verfasst von:

Julius Lehmann
(julius.lehmann@tum.de)

Stand:

27. September 2020

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis

I Experimentalteil	1
1 Thermodynamik und statistische Physik	1
1.1 Entropie S	1
1.2 Thermodynamische Potentiale	1
1.2.1 Innere Energie U	1
1.2.2 Enthalpie H	2
1.2.3 Gibbs-Energie G	2
1.3 Das Mol	2
1.4 Stoffmengenverhältnis	3
1.5 Thermodynamik von Lösungen	3
1.5.1 Konzentrationsangaben	3
1.5.2 Partielle molare Größen	4
1.5.3 Chemisches Potential μ	5
1.5.4 Ideale Lösung	5
1.5.5 Osmotischer Druck	8
1.6 Reaktionen im thermodynamischen Gleichgewicht	9
1.7 Boltzmann-Verteilung	10
1.8 Reaktionskinetik	11
1.9 Thermodynamik des Helix-Knäuel-Übergangs	12
2 Bausteine der Zelle	15
2.1 Aminosäuren	15
2.2 Säuren und Basen	16
2.3 Titration und Puffer	18
2.4 Proteinanalytik	19
2.4.1 Elektrophorese	19
2.4.2 Zentrifugation	20
2.4.3 Proteinstruktur	22
2.4.4 Proteinfaltung	24

INHALTSVERZEICHNIS

3 Enzyme	25
3.1 Enzymkinetik	28
3.1.1 Linearisierung der Michaelis-Menten-Gleichung	29
3.2 Gehemmte Enzymkinetik	30
3.2.1 Kompetitive Inhibition	30
3.2.2 Unkompetitive Inhibition	32
3.3 Kooperativität und Allosterie	33
4 Biologische Musterbildung und Morphogenese	36
4.1 Belousov-Zhabotinsky-Reaktion	36
4.2 Räuber-Beute-System	37
4.3 Goldbeter-Segel-Modell	39
4.4 Turner-Gierer-Meinhardt-Modell	42
5 Nervenleitung	44
5.1 Physiologische Grundlagen	44
5.2 Elektrostatik der Nervenleitung	44
5.2.1 Ionenkanäle	45
5.2.2 Nernst-Potential	45
5.2.3 Goldman-Gleichung	46
5.3 Elektrodynamik der Nervenleitung	50
5.3.1 Aktionspotential	50
5.3.2 Hodgkin-Huxley-Gleichung	51
5.3.3 Vereinfachung der Hodgkin-Huxley-Gleichung	55
5.3.4 FitzHugh-Modell	57
5.4 Kabeltheorie	59
6 Fluoreszenz	62
6.1 Farbstoffe	62
6.2 Molekülorbitale und LCAO-Näherung	64
6.3 Elektronische Übergänge in Molekülen	67
6.4 Übersicht: Fluoreszenz	68
6.5 Förstertransfer	69
6.6 Fluoreszenzmikroskopie	71

INHALTSVERZEICHNIS

II Theorieteil	72
7 Quantenmechanik von Molekülen	72
7.1 Theorie molekularer Wechselwirkungen	72
7.2 Hartree-Methode	73
7.3 Antisymmetrische Wellenfunktion und Slater-Determinanten	74
7.4 Hartree-Fock-Methode	75
8 Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen im Vakuum	77
8.1 Elektrisches Potential und Elektrostatische Wechselwirkungen	77
8.2 Polarisationswechselwirkung	79
8.3 Dispersionswechselwirkungen	81
8.4 Wechselwirkungen quantenmechanischen Ursprungs	83
9 Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen in Lösung	84
9.1 Wechselwirkung von Ionen und Solvatisierung	85
9.2 Elektrostatische Wechselwirkung beliebiger Moleküle	87
9.3 Debye-Hückel-Gleichung	88
9.4 Finite-Differenzen-Methode	90
9.5 Protonierungsgleichgewichte	91
9.6 Hydrophober Effekt	95
9.7 Übersicht: Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen	96
10 Strukturbildung von Biomolekülen	97
10.1 Zwei-Zustands-Modell der Faltung	97
10.2 Modelle für den ungefalteten Zustand	99
10.3 Bildung von Sekundärstrukturen – Zimm-Bragg-Modell	102
10.4 Transfermatrix-Methode	105
11 Simulationsmethoden in der Biophysik	108
11.1 Monte-Carlo-Simulationen	108
11.2 Gittermodelle von Proteinen	110
11.3 Simulation der Moleküldynamik	111
11.4 Strukturmodellierung	114
11.5 Thermodynamische Integration	114
11.6 Stochastische Simulationen / Brownsche-Dynamik-Simulationen	115

INHALTSVERZEICHNIS

12 Assoziation von Biomolekülen und Reaktionsnetzwerke	117
12.1 Assoziation von Biomolekülen	117
12.2 Einflüsse auf die Assoziation	119
12.3 Metabolische Systeme	120
12.4 Stochastisches Verhalten bei niedrigen Konzentrationen	122

Teil I

Experimentalteil

1 Thermodynamik und statistische Physik

1.1 Entropie S

In der statistischen Mechanik ist ein Zustand eines Systems umso wahrscheinlicher, je höher seine Entropie $S(E)$ ist. Die Entropie eines durch makroskopische Größen definierten Systems wird durch die Anzahl seiner zugänglichen, energetisch gleichwertigen Mikrozustände $\Omega(E)$ bestimmt. Seine Formel lautet:

$$S(E) = k_B \ln (\Omega(E)) \quad (1.1)$$

mit der Boltzmann-Konstante $k_B = 1.380\,649 \cdot 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$. Die Entropie kann als „Maß für die Unkenntnis der Zustände aller einzelnen Teilchen“ umschrieben werden. Beispiele für Ω sind:

- Münzwurf: $\Omega = M^N = 2^N$
- Würfel: $\Omega = M^N = 6^N$

1.2 Thermodynamische Potentiale

1.2.1 Innere Energie U

Ein (ideal-)abgeschlossenes System, d. h. weder das Volumen V , die Teilchenzahl N noch die Entropie S des Systems ändern sich, wird durch die innere Energie U beschrieben. Formal ist die Änderung der inneren Energie dU gleich der Summe aus der dem System zugeführten Wärme δQ und der am System geleisteten Arbeit δW :

$$dU = \delta Q + \delta W. \quad (1.2)$$

Seine Zustandsgleichung lautet:

$$dU = -pdV + TdS + \sum_i \mu_i dN_i \quad (1.3)$$

mit dem chemischen Potential μ (vgl. 1.5.3) einer Teilchensorte.

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

1.2.2 Enthalpie H

Die Legendre-Transformierte der inneren Energie U bezüglich des Drucks p ist die Enthalpie H :

$$H = U + pV. \quad (1.4)$$

Die Enthalpie beschreibt ein System mit unveränderlicher Teilchenzahl N , Druck p und Entropie S . Für ihr Differential dH gilt:

$$\begin{aligned} dH &= dU + d(pV) \\ &= dU + pdV + Vdp \\ dH &= Vdp + TdS + \sum_i \mu_i dN_i \end{aligned} \quad (1.5)$$

Im Gleichgewicht ($N = \text{konst.}$, $p = \text{konst.}$, $S = \text{konst.}$) ist die Enthalpie minimal.

1.2.3 Gibbs-Energie G

Experimentell ist es einfacher anstelle der Entropie S die Temperatur T festzuhalten. Man führt deshalb die Gibbs-Energie G (auch Freie Enthalpie) als thermodynamische Größe ein. Sie ist definiert als die Legendre-Transformierte der Enthalpie H bezüglich der Temperatur T :

$$G = H - TS = U + pV - TS. \quad (1.6)$$

Für ihr Differential gilt damit:

$$\begin{aligned} dG &= dH - d(TS) \\ &= dH - TdS - SdT \\ dG &= Vdp - SdT + \sum_i \mu_i dN_i \end{aligned} \quad (1.7)$$

Als Konsequenz liegt genau dann ein Gleichgewicht vor, wenn $N = \text{konst.}$, $p = \text{konst.}$, $T = \text{konst.}$ sind.

1.3 Das Mol

Ein Mol eines Stoffes enthält genau $6,022 \cdot 10^{23}$ Teilchen. Um die Mol n_X eines Stoffes X zu berechnen, können folgende Formeln angewendet werden:

$$n_X = \frac{m}{M} = \frac{V}{V_m} = \frac{N}{N_A}, \quad (1.8)$$

mit der Masse m , der molare Masse M , dem Volumen V , dem molaren Volumen V_m (bei Normalbedingungen $22,4 \cdot 10^{-3} \frac{\text{m}^3}{\text{mol}}$), der Teilchenzahl N und der Avogadro-Konstante $N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \frac{1}{\text{mol}}$.

1.4 Stoffmengenverhältnis

Eine ausgeglichene Reaktionsgleichung erlaubt über die stöchiometrischen Koeffizienten ν_X das Mol eines Stoffes in das Mol eines anderen Stoffes umzurechnen. Für eine Reaktion der Form



gelten die Stoffmengenverhältnisse:

$$\frac{n_A}{\nu_A} = \frac{n_B}{\nu_B} = \frac{n_C}{\nu_C} = \frac{n_D}{\nu_D}. \quad (1.9)$$

1.5 Thermodynamik von Lösungen

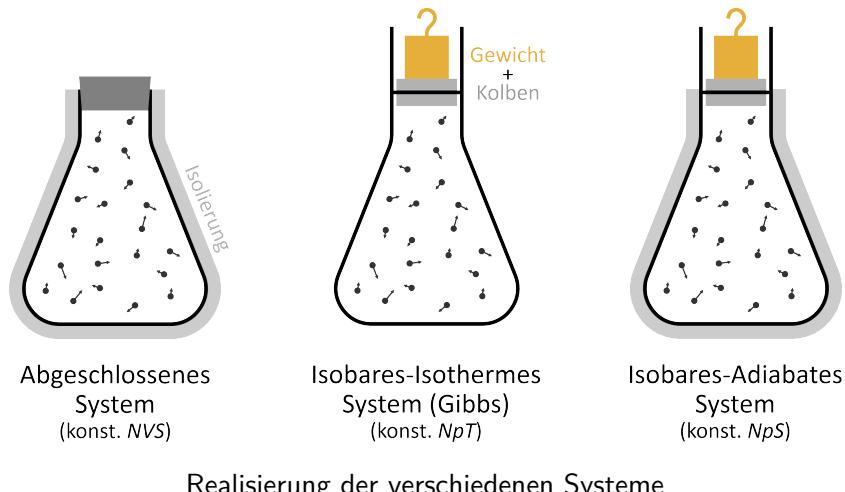
1.5.1 Konzentrationsangaben

Für eine Lösung, die n_A Mole des Stoffes A, n_B Mole des Stoffes B usw. enthält, gibt es verschiedene Größen, die qualitative Aussagen über ihre Zusammensetzung machen. Der Molenbruch x_X einer Lösung beschreibt den molaren Anteil eines Stoffes an den Gesamt mol der Lösung:

$$x_A = \frac{n_A}{n_A + n_B + \dots}, \quad x_B = \frac{n_B}{n_A + n_B + \dots}, \quad \dots \quad (1.10)$$

Es ist nicht schwer zu sehen, dass immer $0 \leq x_X \leq 1$ gilt. Eine weitere, wichtige Größe ist die Stoffmengenkonzentration c_X , $[c] = \frac{\text{mol}}{\text{L}}$ (häufig auch $[X]$), auch Molarität genannt, welche als das Verhältnis von Mol zum Volumen der Lösung V definiert ist:

$$c_X = \frac{n_X}{V} \quad (1.11)$$



1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

Abweichend davon gibt es z. B. noch die Gewichtskonzentration β_X , $[\beta] = \frac{g}{L}$:

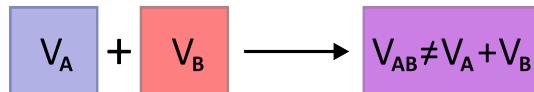
$$\beta_X = \frac{m_X}{V} \quad (1.12)$$

oder die als Molalität bezeichnete Größe b_X , welche das Verhältnis von Stoffmenge zum Volumen des Lösungsmittels darstellt:

$$b_X = \frac{n_X}{V_{\text{Solvans}}}. \quad (1.13)$$

1.5.2 Partielle molare Größen

Man unterscheidet in der statistischen Physik zwischen extensiven Zustandsgrößen, jene die proportional zur Größe des Systems sind (z. B. V , S , H , G), und intensiven Zustandsgrößen, jene die unabhängig von der Größe des Systems sind (z. B. p , T , E -Feld). Bei Lösungen ist es nicht so einfach: der Wert einer extensiven Zustandsgröße in einer Lösung ist nicht gleich der Summe der Werte der reinen Komponenten:



Betrachtet man als Beispiel das Volumen einer Lösung aus Wasser und Zucker, so wird diese kleiner als die Summe der Einzelvolumina sein, da sich das Wasser zwischen den Zuckermolekülen anlagern kann und somit weniger Volumen einnimmt. Um dieses Problem zu lösen führt man das **partielle molare Volumen** ein. Das partielle molare Volumen eines Stoffes ist die Volumenänderung, die eine Lösung erfährt, wenn man ihr ein Mol des Stoffes zugibt, ohne dass sich die Konzentration ändert:

$$\bar{V}_X = \left(\frac{\partial V}{\partial n_X} \right)_{p,T,n_X \neq Y}. \quad (1.14)$$

Für die Änderung des Gesamtvolumens dV gilt dann in Abhängigkeit der Einzeländerungen der verschiedenen Stoffmengen:

$$dV = \left(\frac{\partial V}{\partial n_A} \right)_{p,T,n_A \neq Y} dn_A + \left(\frac{\partial V}{\partial n_B} \right)_{p,T,n_B \neq Y} dn_B + \dots \quad (1.15)$$

Indem man diese Gleichung derart integriert, dass die verschiedenen Stoffkonzentrationen gleich bleiben, erhält man für das Gesamtvolumen V :

$$V = \bar{V}_A n_A + \bar{V}_B n_B + \dots \quad (1.16)$$

Es ist wichtig, dass man für das partielle molare Volumen nicht einfachen den Quotienten, sondern die Ableitung bildet, da

$$\bar{V}_A n_A + \bar{V}_B n_B + \dots \neq \frac{V_A}{n_A} n_A + \frac{V_B}{n_B} n_B + \dots = V_A + V_B + \dots \quad (1.17)$$

1.5.3 Chemisches Potential μ

Prinzipiell können auch andere thermodynamische Größen und auch Potentiale in ihre partielle molare Form überführt werden, beispielsweise:

- $\bar{S}_X = \left. \frac{\partial S}{\partial n_X} \right|_{p,T,n_X \neq Y}$
- $\bar{H}_X = \left. \frac{\partial H}{\partial n_X} \right|_{p,T,n_X \neq Y}$
- $\bar{G}_X = \left. \frac{\partial G}{\partial n_X} \right|_{p,T,n_X \neq Y}$

Speziell die letzten beiden Größen haben besondere Bedeutung in der Beschreibung von Lösungen. Sie werden als das chemische Potential μ mit

$$\mu_X = \left. \frac{\partial H}{\partial n_X} \right|_{p,T,n_X \neq Y} = \left. \frac{\partial G}{\partial n_X} \right|_{p,T,n_X \neq Y} \quad (1.18)$$

bezeichnet und geben die benötigte freie Energie an, um dem System ein Mol Teilchen hinzuzufügen. Wenn eine Komponente X in zwei verschiedenen Phasen α und β vorliegen kann, so gilt im Gleichgewicht:

$$\mu_X^\alpha = \mu_X^\beta, \quad (1.19)$$

anschaulich folgt dies, da bei Ungleichheit eine der beiden Phasen bevorzugt wäre (da dort die Energie mehr minimiert würde) und somit kein Gleichgewicht vorläge. Mithilfe des chemischen Potentials ist es nun auch möglich die Energieänderung ΔG_{Misch} , die aus dem Mischen verschiedener Stoffe in eine Lösung entsteht, zu berechnen:

$$\Delta G_{\text{Misch}} = G_{\text{Lösung}} - G_{\text{rein}} = \sum_i n_i \mu_i - \sum_i n_i \mu_i^0 = \sum_i n_i (\mu_i - \mu_i^0), \quad (1.20)$$

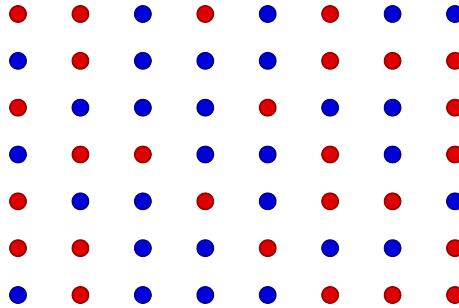
wobei μ_i das chemische Potential der Komponente i in der Lösung und μ_i^0 das chemische Potential der Komponente i in reiner Form bezeichnen.

1.5.4 Ideale Lösung

Um die reinen Mischungseffekte auf die Thermodynamik von Lösungen zu verstehen, wird im Folgenden das Mischen zweier Stoffe in idealer Lösung betrachtet. Eine ideale Lösung erfüllt im Wesentlichen zwei Bedingungen:

$$\Delta H_{\text{Misch}} = 0 \quad \text{und} \quad \Delta V_{\text{Misch}} = 0, \quad (1.21)$$

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK



d. h. es existieren keine Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Teilchen und Teilchensorten (vgl. ideales Gas) und die Volumina sind additiv.

Als nächstes soll angenommen werden, dass die Komponenten der Lösung diskret wie auf einem Gitter platziert werden können (beispielhaft in dem abgebildeten Gitter oben zu sehen). Um die Thermodynamik der Lösung zu untersuchen, wird die Mischungsentropie ΔS_{Misch} berechnet, dafür benötigt man zuerst die Entropie der Lösung und folglich nach der statistischen Definition dieser (Gl. (1.1)) die Anzahl Ω der verschiedenen Konfigurationen N_1 Teilchen der Sorte 1 und N_2 Teilchen der Sorte 2 auf dem Gitter zu platzieren. Sei im folgenden $N_0 = N_1 + N_2$ die Gesamtanzahl der Teilchen, dann gibt es für ein Teilchen der Sorte 1 N_0 -Möglichkeiten dieses auf dem Gitter zu platzieren, für ein weiteres nur noch $(N_0 - 1)$ -Möglichkeiten, für noch ein weiteres nur $(N_0 - 2)$ -Möglichkeiten usw., folglich gilt für die Anzahl der Möglichkeiten N_1 Teilchen der Sorte 1 zu platzieren:

$$N_0 \cdot (N_0 - 1) \cdot (N_0 - 2) \cdots (N_0 - N_1). \quad (1.22)$$

Das Vertauschen zweier Teilchen soll die Gesamtentropie nicht verändern, die Teilchen sind also ununterscheidbar. Um die Ununterscheidbarkeit zu berücksichtigen, muss die Anzahl der Möglichkeiten durch $N_1!$ geteilt werden, damit gilt für Ω :

$$\Omega = \frac{N_0 \cdot (N_0 - 1) \cdot (N_0 - 2) \cdots (N_0 - N_1)}{N_1!} = \frac{N_0!}{N_1! N_2!}. \quad (1.23)$$

Die Teilchen der Sorte 2 müssen nicht beachtet werden, da es nach dem Verteilen der Teilchen der Sorte 1 nur noch eine Möglichkeit gibt, die Restplätze aufzufüllen. Nun kann die Entropie $S_{\text{Lösung}}$ der Lösung berechnet werden:

$$\begin{aligned} S_{\text{Lösung}} &= k_B \ln(\Omega) \\ &= k_B \ln\left(\frac{N_0!}{N_1! N_2!}\right) = k_B (\ln(N_0!) - \ln(N_1! N_2!)) \\ &= k_B (\ln(N_0!) - \ln(N_1!) - \ln(N_2!)) \end{aligned}$$

Benutzen der Stirling-Approximation $\ln(N!) \approx N \ln(N) - N$ liefert:

$$\approx k_B (N_0 \ln(N_0) + N_0 - N_1 \ln(N_1) - N_1 - N_2 \ln(N_2) - N_2)$$

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

$$\begin{aligned}
 & \stackrel{N_0=N_1+N_2}{=} k_B((N_1 + N_2) \ln(N_1 + N_2) - N_1 \ln(N_1) - N_2 \ln(N_2)) \\
 &= k_B \left(N_1 \ln\left(\frac{N_1 + N_2}{N_1}\right) + N_2 \ln\left(\frac{N_1 + N_2}{N_2}\right) \right) \\
 &= -k_B \left(N_1 \ln\left(\frac{N_1}{N_1 + N_2}\right) + N_2 \ln\left(\frac{N_2}{N_1 + N_2}\right) \right)
 \end{aligned}$$

Die Ausdrücke in den Klammern entsprechen dem Molenbruch $x_1 = \frac{n_1}{n_1+n_2} = \frac{N_A \cdot N_1}{N_A \cdot N_1 + N_A \cdot N_2} = \frac{N_1}{N_1+N_2}$ (analog für N_2):

$$\begin{aligned}
 &= -k_B(N_1 \ln(x_1) + N_2 \ln(x_2)) \\
 S_{\text{Lösung}} &= -R(n_1 \ln(x_1) + n_2 \ln(x_2))
 \end{aligned} \tag{1.24}$$

wobei in der letzten Zeile die universelle Gaskonstante $R = N_A \cdot k_B = 8.314\,462 \frac{\text{J}}{\text{mol K}}$ eingeführt wurde. Die Mischungsentropie ist damit

$$\Delta S_{\text{Misch}} = S_{\text{Lösung}} - S_1^0 - S_2^0 \tag{1.25}$$

mit der Entropie der reinen Stoffe S_i^0 . Da es aber nur einen Weg gibt, einen reinen Stoff auf dem Gitter zu platzieren ist $S_i^0 = 0, \forall i$ und folglich gilt für ΔS_{Misch} :

$$\Delta S_{\text{Misch}} = -R(n_1 \ln(x_1) + n_2 \ln(x_2)). \tag{1.26}$$

Es ist nicht schwer zu sehen, dass im Allgemeinen für mehr als zwei verschiedene Stoffe für die Mischungsentropie gilt:

$$\Delta S_{\text{Misch}} = -R \sum_i n_i \ln(x_i). \tag{1.27}$$

Mithilfe der Mischnungsentropie kann nun auch das chemische Potential μ berechnet werden. Dafür bildet man die partielle molare Mischnungsentropie \bar{S}_i der jeweiligen Komponente i :

$$\bar{S}_i = -R \frac{\partial}{\partial n_i} \sum_j n_j \ln(x_j) = -R \ln(x_i) \tag{1.28}$$

Mit der Definition des chemischen Potentials

$$\mu_i = \bar{G}_i = \bar{H}_i - T \bar{S}_i \tag{1.29}$$

folgt schlussendlich:

$$\mu_i = \mu_i^0(T, p) + RT \ln(x_i) \tag{1.30}$$

wobei man \bar{H}_i als das chemische Potential $\mu_i^0(T, p)$ vor dem Lösen der Stoffe interpretiert. Manchmal wird die Abhängigkeit des chemischen Potentials auch als Funktion der Konzentration c geschrieben:

$$\mu_i = \mu_i^0(T, p) + RT \ln(c_i) \tag{1.31}$$

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

Das ist möglich, weil bei niedrigen Konzentrationen c und x proportional zueinander sind. Es unterscheiden sich dann nur die Konstanten $\mu_i^0(T, p)$. Es gilt zu beachten, dass nur der Wert der Konzentration benutzt werden darf wegen der Einheit. Im Falle realer Lösungen ist $\Delta H_{\text{Misch}} \neq 0$ und $\Delta V_{\text{Misch}} \neq 0$. Das nicht-ideale Verhalten wird durch die Einführung der Aktivität a beschrieben:

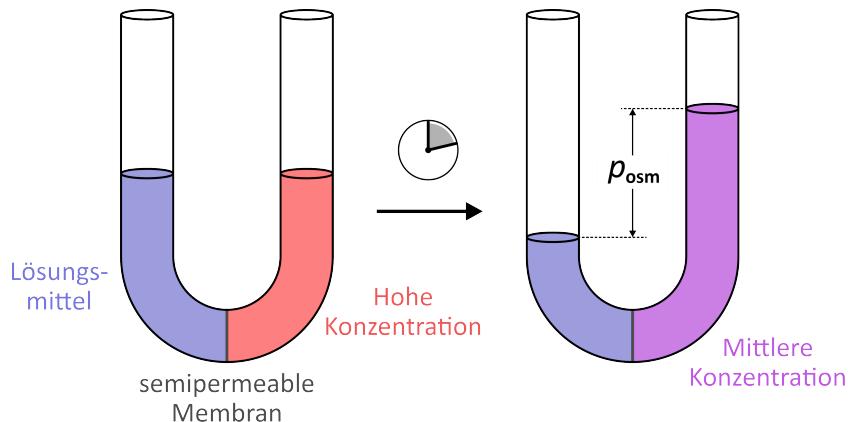
$$\mu_i = \mu_i^0(T, p) + RT \ln(a_i) \quad (1.32)$$

wobei die Aktivität über

$$a_i = \gamma_i x_i \quad \text{oder} \quad a_i = \gamma_i c_i \quad (1.33)$$

mit γ einer materialspezifischen, von p und T sowie x bzw. c abhängenden Konstante, definiert ist.

1.5.5 Osmotischer Druck



Betrachtet man zwei über eine semipermeable Membran getrennte Behältnisse – das eine ist mit einem Lösungsmittel (für die Membran durchlässig) und das andere mit einer Lösung gefüllt – kann man einen Druckunterschied zwischen beiden Behältern erkennen. Dieser Druckunterschied heißt osmotischer Druck p_{osm} und entsteht durch Konzentrationsgradienten zwischen zwei austauschfähigen Lösungen. Sei μ_1 das chemische Potential des Lösungsmittels, μ_2 das der Lösung und x^w und x^s der Molenbruch des permeablen Lösungsmittels bzw. des gelösten Stoffes. Dann gilt im Gleichgewicht für das chemische Potential auf beiden Seiten der Membran

$$\mu_1 = \mu_2 \quad (1.34)$$

Einsetzen von Gleichung (1.30) liefert:

$$\mu_1^0(p) + RT \ln(x_1^w) = \mu_2^0(p + p_{\text{osm}}) + RT \ln(x_2^w) \quad (1.35)$$

Unter der Voraussetzung, dass p_{osm} klein ist, kann μ_2^0 mithilfe von μ_1^0 entwickelt werden:

$$\mu_1^0(p) + RT \ln(x_1^w) = \mu_1^0(p) + p_{\text{osm}} \frac{\partial \mu_1^0}{\partial p} + RT \ln(x_2^w)$$

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

$$p_{\text{osm}} \frac{\partial \mu_1^0}{\partial p} = RT \ln \left(\frac{x_1^w}{x_2^w} \right) \quad (1.36)$$

In der Summe müssen $x^w + x^s = 1$ sein, da sich die Gesamtzahl des Systems nicht ändern. Dann gilt:

$$p_{\text{osm}} \frac{\partial \mu_1^0}{\partial p} = RT \ln \left(\frac{1 - x_1^s}{1 - x_2^s} \right) \quad (1.37)$$

Da im Lösungsmittel keine Stoffe gelöst sind ist $x_1^s = 0$, zusammen mit der Definition $\frac{\partial \mu}{\partial p} = V_m$ folgt:

$$p_{\text{osm}} = \frac{RT}{V_m^w} \ln \left(\frac{1}{1 - x_2^s} \right) \quad (1.38)$$

Im Falle geringer Konzentrationen des gelösten Stoffes, d. h. $x_2^s \ll 1$, kann der Logarithmus genähert werden:

$$p_{\text{osm}} \approx \frac{RT}{V_m^w} x_2^s \quad (1.39)$$

Unter Benutzung der Definition des Molenbruch und der Tatsache, dass $x_2^s \ll 1 \Rightarrow n_2^s \ll 1$, folgt abschließend:

$$\begin{aligned} p_{\text{osm}} &\approx \frac{RT}{V_m^w} \frac{n_2^s}{n^w} = \frac{RT}{V^w} n_2^s \\ p_{\text{osm}} &= RT c_2 \end{aligned} \quad (1.40)$$

Diese Gleichung wird als **Van't-Hoffsches Gesetz** bezeichnet.

1.6 Reaktionen im thermodynamischen Gleichgewicht

Als nächstes soll die Thermodynamik einer allgemeinen Reaktion betrachtet werden. Reagieren beispielsweise die Moleküle A mit den Molekülen B zu den Molekülen C und D



dann gilt für die Änderung der Freien Enthalpie der Reaktion, der Reaktionsenthalpie:

$$\Delta G = \nu_C \mu_C + \nu_D \mu_D - \nu_A \mu_A - \nu_B \mu_B \quad (1.41)$$

wegen $\mu = \mu^0 + RT \ln(c)$ kann die Gleichung umgeschrieben werden zu

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT(\nu_C \ln(c_C) + \nu_D \ln(c_D) - \nu_A \ln(c_A) - \nu_B \ln(c_B))$$

$$\Leftrightarrow \boxed{\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \left(\frac{c_C^{\nu_C} \cdot c_D^{\nu_D}}{c_A^{\nu_A} \cdot c_B^{\nu_B}} \right)} \quad (1.42)$$

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

Lässt man die Reaktion ablaufen und einen Gleichgewichtszustand einnehmen, gilt für die Änderung der Freien Enthalpie

$$\boxed{\Delta G = 0} \quad (1.43)$$

und eingesetzt in obige Gleichung erhält man das Massenwirkungsgesetz:

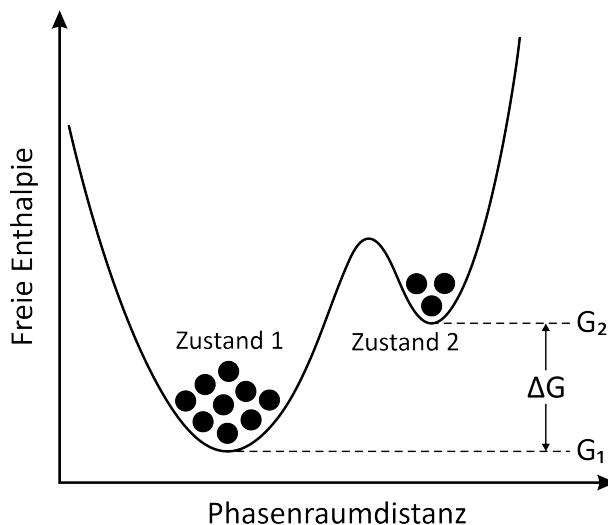
$$\Delta G^0 = -RT \ln \left(\frac{c_C^{\nu_C} \cdot c_D^{\nu_D}}{c_A^{\nu_A} \cdot c_B^{\nu_B}} \right) = -RT \ln(K), \quad (1.44)$$

wobei die Gleichgewichtskonstante $K = \frac{c_C^{\nu_C} \cdot c_D^{\nu_D}}{c_A^{\nu_A} \cdot c_B^{\nu_B}}$ eingeführt wurde. Die Gleichung kann umgestellt werden, um einen Zusammenhang zwischen Gleichgewichtskonstante und Freier Standard-Reaktionsenthalpie zu erhalten:

$$\boxed{K = e^{-\frac{\Delta G^0}{RT}}} \quad (1.45)$$

Die Freie Standard-Reaktionsenthalpie ist die Freie Enthalpie, welche die Reaktion unter Standardbedingungen hätte. Die Spontanität einer Reaktion hängt von ΔG und nicht von ΔG^0 ab, die Spontanität ist also eine konzentrationsabhängige Eigenschaft einer Reaktion.

1.7 Boltzmann-Verteilung



Für ein System, welches nur aus zwei Zuständen besteht, d. h.

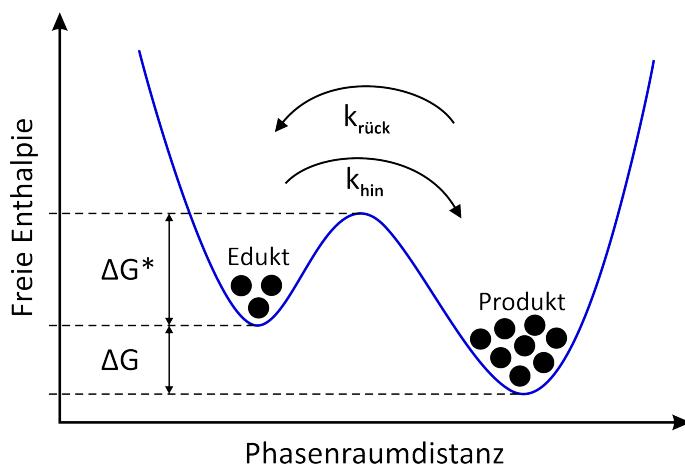


wird das Massenwirkungsgesetz zu

$$\frac{c_A}{c_B} = \frac{p_A}{p_B} = e^{-\frac{\Delta G}{k_B T}}, \quad (1.46)$$

wobei p_i die Wahrscheinlichkeit beschreibt, mit welcher der jeweilige Zustand besetzt ist. Im thermodynamischen Gleichgewicht halten sich Teilchen bevorzugt in ihrem niedrigsten Energiezustand auf. Aber aufgrund der thermischen Anregung (Stöße) hält sich ein Teil in höheren Zuständen auf. Die Boltzmann-Verteilung gibt dann die Wahrscheinlichkeit p_i an, im thermischen Gleichgewicht ein Teilchen im Zustand i mit der Energie G_i zu finden.

1.8 Reaktionskinetik



Für eine einfache Reaktion der Form



ist es offensichtlich, dass die Reaktionsgeschwindigkeit von der Höhe der Barriere ΔG^* abhängt. Um die Reaktionsgeschwindigkeit zu bestimmen, setzt man einfache Raten-gleichungen für die entsprechenden Stoffmengenkonzentrationen $[X]$ an:

$$\frac{d[A]}{dt} = k_{\text{rück}}[AB] - k_{\text{hin}}[A][B] \quad (1.47)$$

$$\frac{d[A]}{dt} = k_{\text{rück}}[AB] - k_{\text{hin}}[A][B] \quad (1.48)$$

$$\frac{d[AB]}{dt} = -k_{\text{rück}}[AB] + k_{\text{hin}}[A][B] \quad (1.49)$$

In einem stationären Gleichgewicht ändern sich die Konzentrationen der Reaktanten nicht, also

$$\frac{d[A]}{dt} = 0 \Rightarrow k_{\text{rück}}[AB] = k_{\text{hin}}[A][B]. \quad (1.50)$$

Vergleicht man diesen Ausdruck mit dem Massenwirkungsgesetz erhält man für die Gleichgewichtskonstante:

$$K = \frac{[AB]}{[A][B]} = \frac{k_{\text{hin}}}{k_{\text{rück}}} \quad (1.51)$$

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

In den obigen Gleichungen sind k_{hin} und $k_{\text{rück}}$ nicht näher bekannte, für die Reaktion spezifische Geschwindigkeitskonstanten. Es ist dennoch möglich, die Geschwindigkeitskonstanten in Relation zu den Freien Enthalpien der Reaktion, im speziellen der Barriere, zu setzen. Ausgehend von der Feststellung, dass ein Teilchen zum reagiert mindestens die Barriere überwunden haben muss, also mindestens die Energie ΔG^* in der Hin- bzw. $\Delta G + \Delta G^*$ in Rückrichtung besaß, setzt man eine Boltzmann-Verteilung für die Geschwindigkeitskonstanten an:

$$k_{\text{hin}} = A_{\text{hin}} e^{-\frac{\Delta G^*}{k_B T}} \quad (1.52)$$

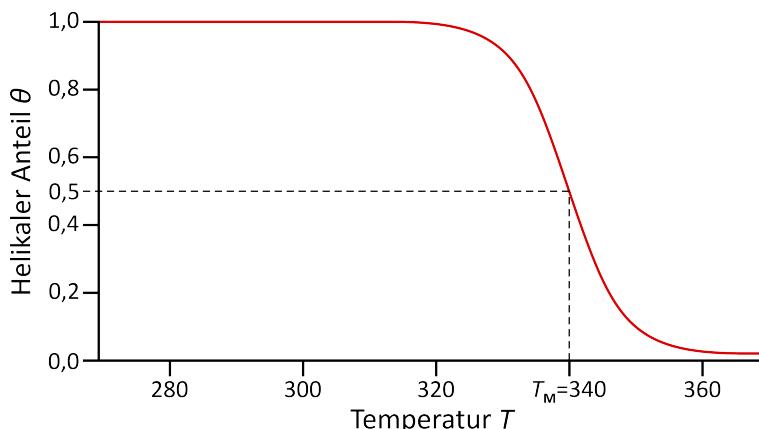
$$k_{\text{rück}} = A_{\text{rück}} e^{-\frac{\Delta G + \Delta G^*}{k_B T}}, \quad (1.53)$$

hier bezeichnen $A_{\text{hin/rück}}$ unbekannte Parameter z. B. Versuchsanläufe/-frequenzen. Teilt man k_{hin} durch $k_{\text{rück}}$ erhält man für die Gleichgewichtskonstante:

$$K = \frac{A_{\text{hin}}}{A_{\text{rück}}} e^{-\frac{\Delta G}{k_B T}}. \quad (1.54)$$

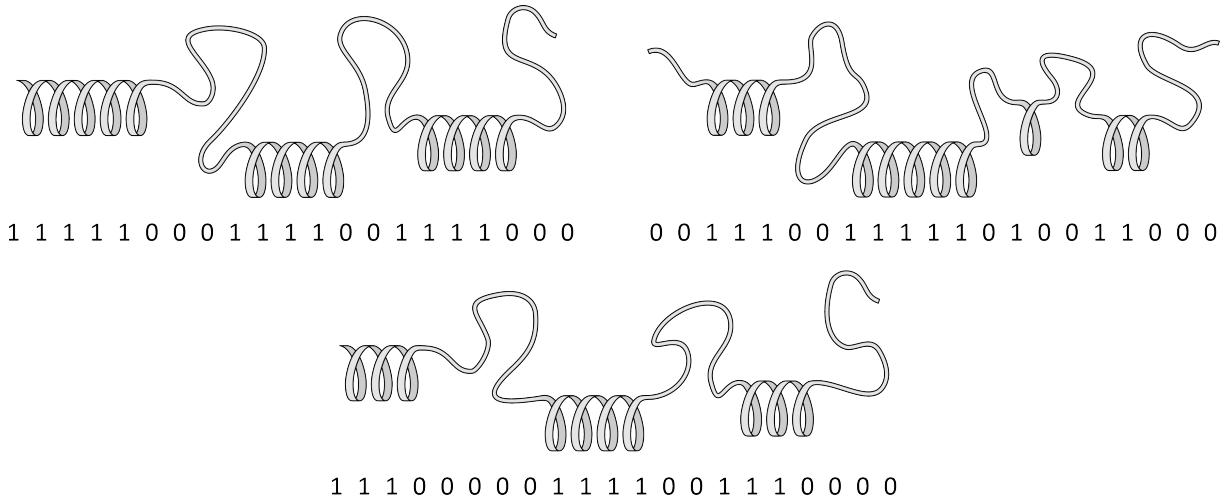
Bis auf den Faktor $\frac{A_{\text{hin}}}{A_{\text{rück}}}$ entspricht dieses Ergebnis der bekannten Abhängigkeit der Gleichgewichtskonstante von der Freien Enthalpie. Zu $\frac{A_{\text{hin}}}{A_{\text{rück}}}$ kann noch angemerkt werden, dass dieser meistens annähernd 1 ist. (vgl. Kramers-Eyring-Theorem)

1.9 Thermodynamik des Helix-Knäuel-Übergangs



Faltungsprozesse von DNA und Übergänge von entfalteten Proteinen in geordnete Zustände sind allgegenwärtig und von hoher Wichtigkeit in der Natur. Um die Prozesse thermodynamisch zu beschreiben, bedient man sich eines vereinfachten Modells, dem Helix-Knäuel-Übergang. Die Grundannahme des Modells ist, dass bei niedrigen Temperaturen die Struktur im gefalteten Zustand (der Helix) vorliegt und diese Strukturen bei Ansteigen der Temperatur aufbrechen und in ungeordnete Zustände übergehen können. Trägt man den Anteil der helikalen Zustände θ über die Temperatur T auf, so

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK



besitzt die Kurve einen sigmoidalen Verlauf, wobei mithilfe der Steilheit des Übergangs die Energetik der Helix-Struktur untersucht werden kann.

Schematisch kann die Struktur als eine Aneinanderreihung von Helix- (1) und entfalteten Zuständen (0) beschrieben werden. Die Strukturen können sich ineinander umwandeln gleich einer chemischen Gleichgewichtsreaktion, sei also I_0 eine vollständig entfaltete Struktur und I_N eine Struktur mit N Helizes, dann gilt

$$I_0 \xrightleftharpoons{K} I_N, \quad (V)$$

mit der Gleichgewichtskonstante $K = \frac{[I_N]}{[I_0]}$. Der Ordnungsgrad der Kette θ , der den Anteil von helikalen Zuständen an einer Struktur beschreibt, ist definiert als

$$\theta = \frac{[I_N]}{[I_0] + [I_N]}. \quad (1.55)$$

Indem man den Bruch mit $\frac{1}{[I_0]}$ erweitert und die Gleichgewichtskonstante K identifiziert, nimmt θ die Form

$$\theta = \frac{K}{1+K} \quad (1.56)$$

an. Nun soll die Thermodynamik des Ordnungsgrades bestimmt werden, dafür ist es zuallererst notwendig, einen Zusammenhang zwischen Freier Enthalpie G und Enthalpie H herzuleiten. Indem man $\frac{\partial G}{\partial T}$ bei konstantem Druck p nach der Temperatur T ableitet, erhält man

$$\frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{G}{T} \right) \Big|_p = -\frac{G}{T^2} + \frac{1}{T} \frac{\partial G}{\partial T} \Big|_p \quad (1.57)$$

aus dem Differential der Freien Enthalpie $dG = Vdp - SdT$ folgt $\frac{\partial G}{\partial T} \Big|_p = -S$ und damit:

$$\frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{G}{T} \right) \Big|_p = -\frac{G}{T^2} - \frac{S}{T} \quad (1.58)$$

1 THERMODYNAMIK UND STATISTISCHE PHYSIK

Einsetzen der Legendre-Definition der Freien Enthalpie $G = H - TS$ liefert:

$$\boxed{\left. \frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{G}{T} \right) \right|_p = -\frac{H}{T^2}} \quad (1.59)$$

Diese Gleichung wird als **Gibbs-Helmoltz-Gleichung** bezeichnet. Aus Gleichung (1.45) ist bekannt, dass für die Gleichgewichtskonstante K in Abhängigkeit der Freien Standard-Reaktionsenthalpie ΔG^0 gilt:

$$\ln(K) = -\frac{1}{R} \frac{\Delta G^0}{T} \quad (1.60)$$

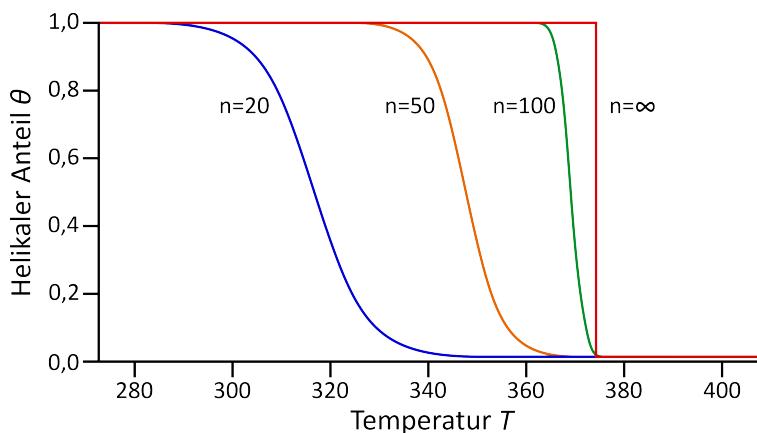
Indem man beide Seiten nach der Temperatur bei konstantem Druck ableitet und die Gibbs-Helmoltz-Gleichung verwendet, folgt:

$$\boxed{\left. \frac{\partial \ln(K)}{\partial T} \right|_p = \frac{\Delta H^0}{RT^2}} \quad (1.61)$$

Diese Form der Gibbs-Helmoltz-Gleichung heißt **Van-'t-Hoff-Gleichung**. Mit dieser Gleichung kann nun die Thermodynamik des Schmelzübergangs *Helix* → *Ungeordnet* analysiert werden. Dafür wird die Steigung des Ordnungsparameters θ bei der Temperatur T_M , bei welcher die Hälfte der Struktur im helikalen Zustand und die andere Hälfte im ungeordneten Zustand also $\theta = \frac{1}{2} \Rightarrow K = 1$ ist, untersucht. Für die Steigung in diesem Punkt gilt:

$$\left. \frac{\partial \theta}{\partial T} \right|_{T_M} = \left. \frac{\partial \theta}{\partial K} \frac{\partial K}{\partial \ln(K)} \frac{\partial \ln(K)}{\partial T} \right|_{T_M} = \left. \frac{K}{(1+K)^2} \frac{\Delta H^0}{RT^2} \right|_{T_M} = \frac{1}{4} \frac{\Delta H_M^0}{RT_M^2} \quad (1.62)$$

Mit $\Delta H_M^0 = n \cdot h_M$, wobei h_M die Enthalpedifferenz pro Segment ist, kann nun aus der Steilheit der Kurve bei T_M die Kooperativität des Übergangs, also ob die Helixzustände in kleinen Segmenten entfalten oder ob sich große Segmente gleichzeitig entfalten, bestimmt werden, bei letzterem wäre die Steilheit groß.

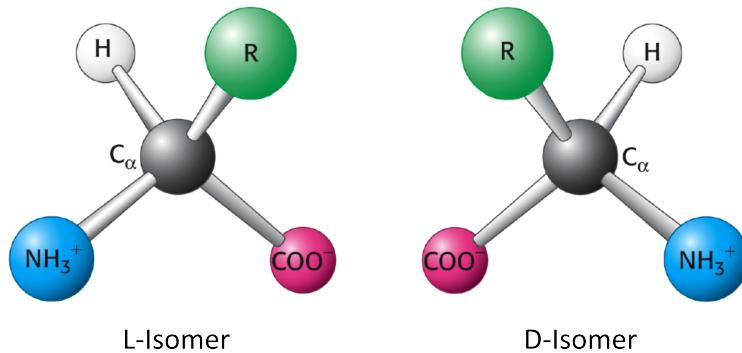


2 BAUSTEINE DER ZELLE

2 Bausteine der Zelle

2.1 Aminosäuren

Aminosäuren bilden als Grundbausteine der Polypeptide und somit der Proteine eine wichtige Gruppe chemischer Verbindungen in Zellen.



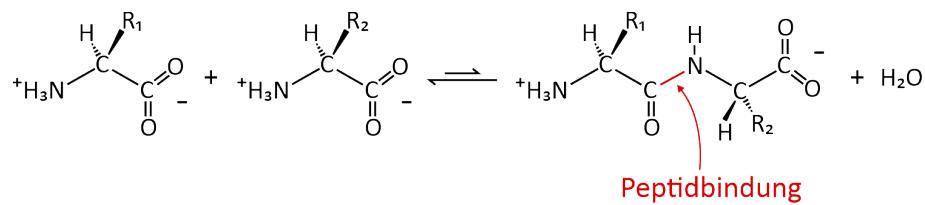
Der grundsätzliche Aufbau jeder Aminosäure ist gleich: an ein (vierbindriges) zentrales Kohlenstoffatom C_α binden eine Amino-Gruppe NH_3^+ , ein Säurerest COO^- , ein Wasserstoff H und ein beliebiger weiterer Rest R. Strukturell wären zwei verschiedene, spiegelsymmetrische Konfigurationen der einzelnen funktionalen Gruppen möglich – eine L-isomere und eine D-isomere Form – in der Natur kommt aber nur die L-Isomerie vor. Aminosäuren unterscheiden sich nur über ihre Seitenkette R voneinander; je nachdem, welcher Rest vorliegt, kann man zwischen den vier Gruppen negativ (sauer), positiv (basisch), polar/neutral und unpolar/hydrophob unterscheiden. Insgesamt gibt es somit 20 unterschiedliche Aminosäuren.

Aminosäure		Nebenkette		Aminosäure		Nebenkette	
Asparaginsäure	Asp	D	negativ	Alanin	Ala	A	unpolar
Glutaminsäure	Glu	E	negativ	Glycin	Gly	G	unpolar
Arginin	Arg	R	positiv	Valin	Val	V	unpolar
Lysin	Lys	K	positiv	Leucin	Leu	L	unpolar
Histidin	His	H	positiv	Isoleucin	Ile	I	unpolar
Asparagin	Asn	N	polar/neutral	Prolin	Pro	P	unpolar
Glutamin	Gln	Q	polar/neutral	Phenylalanin	Phe	F	unpolar
Serin	Ser	S	polar/neutral	Methionin	Met	M	unpolar
Threonin	Thr	T	polar/neutral	Tryptophan	Trp	W	unpolar
Tyrosin	Tyr	Y	polar/neutral	Cystein	Cys	C	unpolar

Polare Aminosäuren Unpolare Aminosäuren

Bindet eine Carbonsäure unter Abspaltung von Wasser mit einer Aminogruppe (Kondensationsreaktion, Umkehrreaktion ist die Hydrolyse), entsteht eine Peptidgruppe (Carbonsäureamidbindung). Sowohl bei der Peptidsynthese im Labor als auch bei der bio-

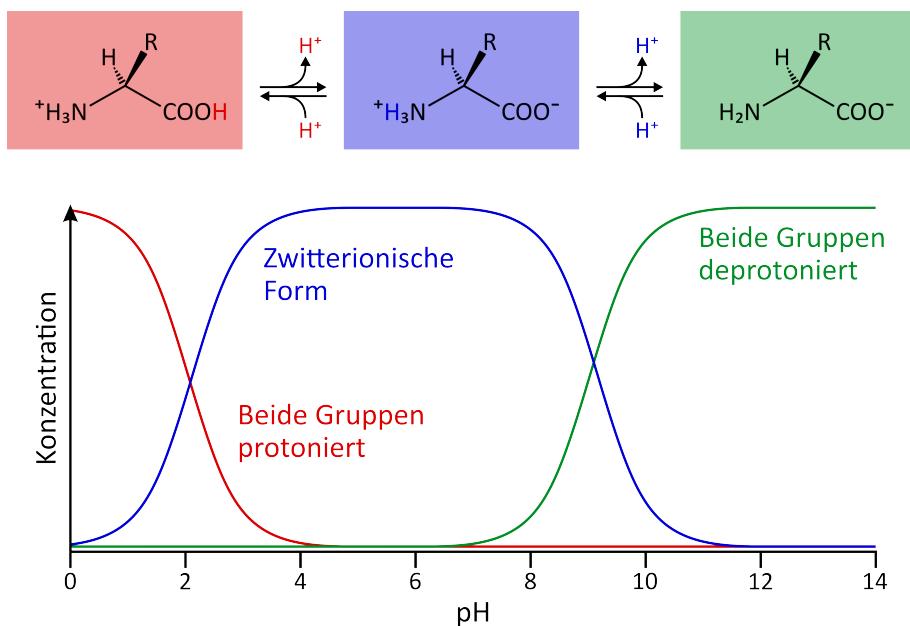
2 BAUSTEINE DER ZELLE



logischen Synthesen von Peptiden und Proteinen müssen die reaktiven Gruppen zuerst aktiviert werden. Dies geschieht in biologischen Systemen zumeist durch Enzyme. Bei der Proteinbiosynthese in einer Zelle wird diese Reaktion während der Translation von den Ribosomen katalysiert. Das Gleichgewicht der Reaktion liegt stark auf der linken Seite, ist dann aber kinetisch sehr stabil (Lebensdauern bis zu 1000 Jahre). Polypeptidketten aus verschiedenen Aminosäuren bilden das primäre Strukturelement von Proteinen und werden durch ihre Aminosäuresequenz charakterisiert.

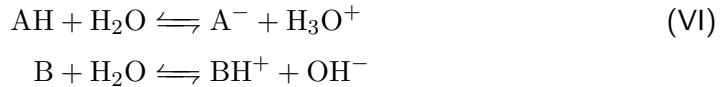
2.2 Säuren und Basen

Aminosäuren mit saurer oder basischer Seitenkette können durch (De-)Protonierung ionisiert und somit ladungstragend werden. Aber auch polare/neutrale und unpolare/hydrophobe Aminosäuren können durch (De-)Protonierung der Amino- und Carboxy-Gruppe ionisiert werden, d. h. jede Aminosäure hat unabhängig von ihrer Seitenkette die Möglichkeit ihre Ladung zu wechseln. Die (De-)Protonierung ist abhängig vom pH-Wert (vgl. unten) der umliegenden Lösung der Aminosäure.



2 BAUSTEINE DER ZELLE

Im Allgemeinen sind Säuren Protonendonatoren und Basen Protonenakzeptoren:



mit einer allgemeinen Säure AH bzw. Base B, dem Hydroxid-Ion OH^- und dem Oxonium H_3O^+ . Die Gleichgewichtskonstante der Säurereaktion lautet $K = \frac{[\text{A}^-] \cdot [\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{AH}] \cdot [\text{H}_2\text{O}]}$, da aber die Konzentration des Wassers $[\text{H}_2\text{O}]$ bei der Reaktion in wässriger Lösung praktisch konstant bleibt, lässt sich $[\text{H}_2\text{O}]$ in die Konstante K einbeziehen. Damit ergibt sich schließlich die Säurekonstante

$$K_S = K \cdot [\text{H}_2\text{O}] = \frac{[\text{A}^-] \cdot [\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{AH}]} \quad (2.1)$$

Es bietet sich nun an, eine neue Größe, den $\text{p}K_S$ -Wert definiert über

$$\boxed{\text{p}K_S = -\log(K_S)} \quad (2.2)$$

einzuführen. Je kleiner der $\text{p}K_S$ -Wert ist, desto stärker ist die Säure. Für eine Lösung in Wasser ist zu beachten, dass Wasser mit sich selbst als Säure und Base reagieren kann. Dieser Vorgang wird **Autoprotolyse** genannt und wird durch die Reaktionsgleichung



beschrieben. Auch hier kann wieder eine Gleichgewichtskonstante ähnlich der Säurekonstante eingeführt werden, genannt das *Ionenprodukt des Wassers*:

$$K_W = [\text{HO}^-] \cdot [\text{H}_3\text{O}^+] \quad (2.3)$$

Bei Normalbedingungen hat das Ionenprodukt ungefähr den Wert $K_W = 10^{-14} \frac{\text{mol}^2}{\text{L}^2}$. Um nun die Stärke einer Säure in wässriger Lösung anhand der Zusammensetzung des Wassers zu bestimmen, betrachtet man die Konzentration der Oxonium-Ionen $[\text{H}_3\text{O}^+]$: ist die Konzentration der Oxonium-Ionen höher als normal, so liegt eine Säure vor, andernfalls eine Base. Dieser Zusammenhang wird mit dem pH-Wert beschrieben und ist definiert über

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 10^{-\text{pH}} \quad (2.4)$$

oder in bekannter Form umgestellt nach dem pH-Wert:

$$\boxed{\text{pH} = -\log([\text{H}_3\text{O}^+])} \quad (2.5)$$

Um die Lage des Gleichgewichts einer Säure-Base-Reaktion (gegeben über den $\text{p}K_S$ -Wert) mit dem pH-Wert der resultierenden Lösung zu verknüpfen, schreibt man die Definition des $\text{p}K_S$ -Werts um:

$$\text{p}K_S = -\log(K_S)$$

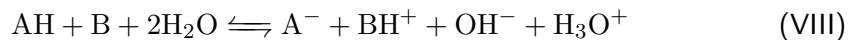
2 BAUSTEINE DER ZELLE

$$\begin{aligned}
 &= -\log \left(\frac{[A^-] \cdot [H_3O^+]}{[AH]} \right) \\
 &= -\log ([H_3O^+]) - \log \left(\frac{[A^-]}{[AH]} \right) \\
 pK_S &= \text{pH} - \log \left(\frac{[A^-]}{[AH]} \right)
 \end{aligned} \tag{2.6}$$

Die letzte Gleichung heißt **Henderson-Hasselbalch-Gleichung**.

2.3 Titration und Puffer

Für den experimentellen Kontext sind pH-stabile Lösungen von besonderem Interesse. Lösungen, welche nach dem hinzugeben einer (schwachen) Säure oder Base ihren pH-Wert annähernd konstant halten, werden als **Puffer** bezeichnet. Wie ändert sich nun der pH-Wert eines Puffers nach titrieren (d. h. tropfchenweise langsame hinzugeben) einer Säure/Base? Dazu soll beispielhaft die Titration einer schwachen Säure A (z. B. Essigsäure) mit einer starken Base B (z. B. NaOH) betrachtet werden:



Da die gesamte Lösung elektrisch neutral ist, muss für die Konzentrationen der Produkte gelten:

$$[BH^+] + [H_3O^+] = [A^-] + [OH^-] \tag{2.7}$$

Die Summe der vorhandenen Säure AH und der dissozierten Säurereste A⁻ muss gleich bleiben, da keine weitere Säure hinzugegeben wird. Folglich gilt für die Gesamtkonzentration der A-Gruppen relativ zum Anfangswert [A]₀:

$$[A] = [A]_0 \cdot \frac{V_A}{V_A + V_B}. \tag{2.8}$$

Die starke Base soll vollständig dissoziiert vorliegen, d. h. die Konzentration [BH⁺] entspricht der Gesamtkonzentration der B-Gruppen. Damit folgt für [BH⁺] relativ zum Anfangswert [B]₀:

$$[BH^+] = [B] = [B]_0 \cdot \frac{V_B}{V_A + V_B}. \tag{2.9}$$

Um nun die Änderung des pH-Werts der Lösung zu untersuchen, werden alle Konzentrationen der Gleichung (2.7) mithilfe der Konzentration der Oxonium-Ionen ausgedrückt. Für die schwache Säure A kann die Säurekonstante K_S mit obiger Gleichung umgeschrieben werden zu

$$K_S = \frac{[A^-] \cdot [H_3O^+]}{[AH]} = \frac{[A^-] \cdot [H_3O^+]}{[A] - [A^-]} \tag{2.10}$$

2 BAUSTEINE DER ZELLE

und umgeformt nach der Konzentration der Säurereste $[A^-]$:

$$[A^-] = \frac{[A] \cdot K_S}{K_S + [H_3O^+]} = \frac{V_A}{V_A + V_B} \cdot \frac{[A]_0 \cdot K_S}{K_S + [H_3O^+]}. \quad (2.11)$$

Für die Konzentration der Basen $[BH^+]$ gilt gerade (2.9) und für die Konzentration der Hydroxid-Ionen gilt über das Ionenprodukt des Wassers K_W :

$$[OH^-] = \frac{K_W}{[H_3O^+]}. \quad (2.12)$$

Die Konzentrationen eingesetzt in (2.7) führen zu

$$[B]_0 \cdot \frac{V_B}{V_A + V_B} + [H_3O^+] = \frac{V_A}{V_A + V_B} \cdot \frac{[A]_0 \cdot K_S}{K_S + [H_3O^+]} + \frac{K_W}{[H_3O^+]}. \quad (2.13)$$

Diese Gleichung ist nur umständlich nach der Konzentration $[H_3O^+]$ auflösbar, weshalb man nach dem Verhältnis $\frac{V_B}{V_A}$ auflöst und dann die Umkehrung (graphisch) bildet:

$$\boxed{\frac{V_B}{V_A} = \frac{K_S[A]_0 \cdot [H_3O^+] - [H_3O^+]^2 + K_W}{[B]_0 \cdot [H_3O^+] + [H_3O^+]^2 - K_W}} \quad (2.14)$$

Allgemein gilt, um Werte des pHs im Bereich des pK_S der schwachen Säure puffert die Lösung optimal.

2.4 Proteinanalytik

2.4.1 Elektrophorese

Elektrophorese bezeichnet das Wandern geladener Teilchen oder gelöster Moleküle innerhalb eines Mediums nach Anlegen eines elektrischen Feldes. Elektrophorese wird benutzt, um Makromoleküle auf Basis ihrer Größe zu separieren. Die Driftgeschwindigkeit der Teilchen, typischerweise Proteine oder Nukleinsäuren, ist bei der Elektrophorese proportional zur Feldstärke E und zur Ionenladung Q sowie umgekehrt proportional zum Teilchenradius r und zur Viskosität η des Stoffes.

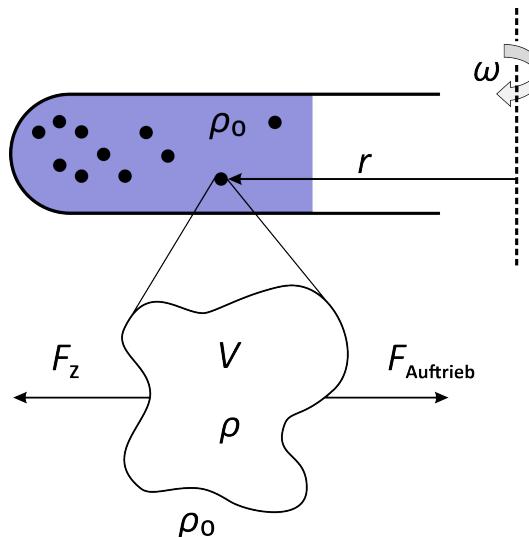
Die Methode der Elektrophorese kann abgewandelt werden, um noch höhere Aussagekraft zu erhalten. Die 2D-Gelelektrophorese ist eine analytische Methode, welche die isoelektrische Fokussierung (IEF) mit der SDS-Polyacrylamidgelektrophorese (SDS-PAGE) zur Trennung komplexer Proteingemische in Einzelproteine kombiniert. Während der IEF wird der Proteinextrakt in einem pH-Gradienten-Gel im elektrischen Feld ein-dimensional aufgetrennt. Die sauren und basischen Aminosäurereste der Proteine durchlaufen in Abhängigkeit vom Umgebungs-pH-Wert verschiedene (De)protonierungszustände und bestimmen so die Ladung des Proteins. Damit sind sie für die Wirkung des elektrischen Feldes auf die Proteine verantwortlich. Am isoelektrischen Punkt pI heben sich

2 BAUSTEINE DER ZELLE

positive und negative Ladungen des Proteins auf. Der pI entspricht dem pH-Wert an dem das Protein eine Nettoladung von 0 besitzt. Es findet keine Kraftwirkung des elektrischen Feldes auf das nun ladungsneutrale Protein mehr statt und das Protein lagert sich ab. Der Gelstreifen mit den nach dem pH-Wert aufgetrennten auf ein SDS-haltiges Polyacrylamidgel gelegt. Die Proteine werden nun senkrecht IEF in einer zweiten Elektrophorese nach ihrer Größe getrennt. Beim Anlegen des elektrischen Feldes wandern die entfalteten und von SDS umgebenen Proteine mit ihrem Überschuss negativer Ladungen durch das Gel, welches den Proteinen entsprechend ihrer Molekülgröße einen mehr oder minder großen Widerstand entgegengesetzt.

2.4.2 Zentrifugation

Mit der Zentrifugation können die Bestandteile von Suspensionen, Emulsionen und Gasgemischen getrennt werden. Zentrifugen nutzen dabei die Massenträgheit und Zentrifugalkraft zur Stofftrennung. Partikel oder Medien mit höherer Dichte wandern aufgrund der höheren Trägheit nach außen. Dabei verdrängen sie die Bestandteile mit niedrigerer Dichte, die hierdurch zur Mitte gelangen. Der Prozess ist gegenüber dem auf der Schwerkraft basierenden Methode der Sedimentation wesentlich schneller oder wird überhaupt erst möglich, da Gegenkräfte wie die thermische Molekularbewegung oder die Viskosität überwunden werden.



Betrachtet man also einen Behälter mit Flüssigkeit und darin gelösten Partikeln und lässt diesen mit einer Winkelgeschwindigkeit ω um eine Achse rotieren, gilt für die Kraft F_{res} , die auf ein Teilchen mit Abstand r von der Rotationsachse wirkt:

$$F_{\text{res}} = F_Z - F_{\text{Auftrieb}}. \quad (2.15)$$

Die Zentrifugalkraft F_Z ist bekanntermaßen über

$$F_Z = mr\omega^2 \quad (2.16)$$

2 BAUSTEINE DER ZELLE

gegeben. Für die Auftriebskraft gilt:

$$\begin{aligned}
 F_{\text{Auftrieb}} &= V\rho_0 a_Z \\
 &= \frac{m}{\rho} \rho_0 a_Z \\
 &= \frac{m}{\rho} \rho_0 \frac{F_Z}{m} \\
 &= m r \omega^2 \frac{\rho_0}{\rho}.
 \end{aligned} \tag{2.17}$$

Folglich gilt für die resultierende Kraft auf das Teilchen

$$F_{\text{res}} = m r \omega^2 \left(1 - \frac{\rho_0}{\rho}\right) = m' r \omega^2 \tag{2.18}$$

mit der reduzierten Masse des Teilchens m' . Um die Masse der Teilchen zu bestimmen, wendet man die **dynamische Zentrifugation** an. Dabei wird der Behälter möglichst schnell gedreht und die Sedimentationsgeschwindigkeit, d. h. die Geschwindigkeit mit welcher die Teilchen sich in einem charakteristischen Abstand anlagern, gemessen. Bei der dynamischen Zentrifugation hängt die Sedimentationsgeschwindigkeit im Wesentlichen von der (Stokeschen) Reibung, welche die Teilchen beim Durchwandern der Flüssigkeit erfahren, ab. Somit gilt für F_{res} :

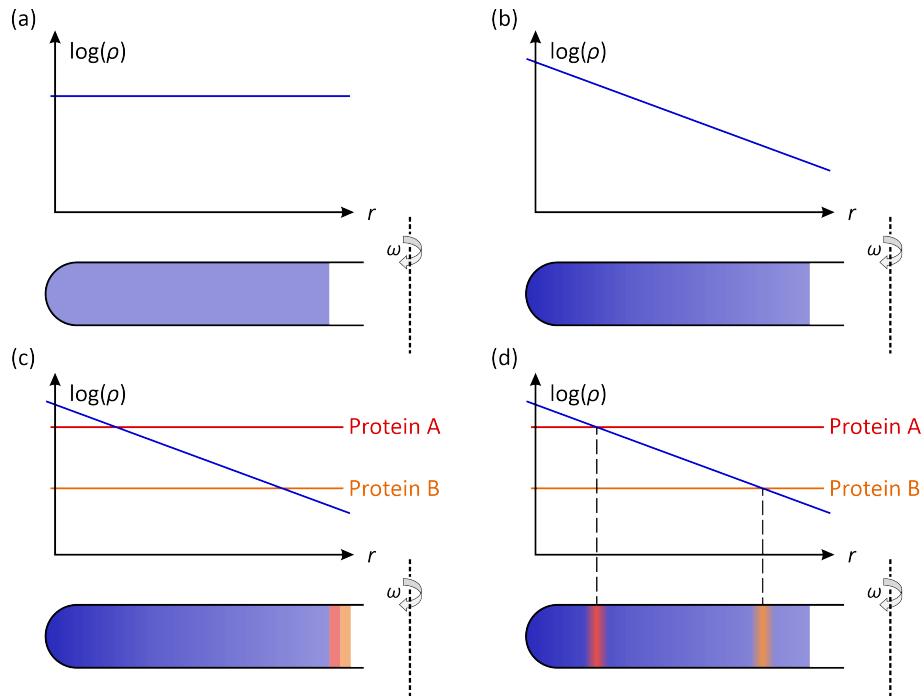
$$F_{\text{res}} = m a_Z \left(1 - \frac{\rho_0}{\rho}\right) \stackrel{!}{=} \gamma \cdot v \tag{2.19}$$

mit dem Reibungskoeffizienten γ (für Kugeln $\gamma = 6\pi\eta R$, i. A. formabhängig). Formt man diese Gleichung nach m auf, folgt:

$$m = \frac{\gamma \cdot \frac{v}{a_Z}}{1 - \frac{\rho_0}{\rho}} = \frac{\gamma \cdot s}{1 - \frac{\rho_0}{\rho}} \tag{2.20}$$

wobei die Sedimentationskonstante $s = \frac{v}{a_Z}$ mit der Einheit $[s] = 1 \text{ S(vedberg)} = 10^{-13} \text{ s}$ eingeführt wurde. Häufig findet man auch, dass die Massencharakterisierung eines Proteins über seinen s -Wert stattfindet, also Proteine nach ihrem s -Wert geordnet und katalogisiert werden. Wie bei der Elektrophorese existieren auch hier Möglichkeiten, die Methode zu verbessern. Dazu wird die Zentrifugation nicht in einer homogenen Lösung durchgeführt (a), sondern in einer Lösung mit Dichtegradient (b). Durch diese Schichtung der Dichteverteilung in der Lösung ist die Auftriebskraft, welche ein Teilchen erfährt, abhängig vom Abstand zur Rotationsachse. Bringt man nun Proteine auf die Lösung auf und beginnt mit der Zentrifugation (c) wandern die Teilchen durch den Dichtegradienten, bis sie im Kräftegleichgewicht sind (d). Das heißt, sie lagern sich entsprechend ihrer Dichte in der Lösung an.

2 BAUSTEINE DER ZELLE



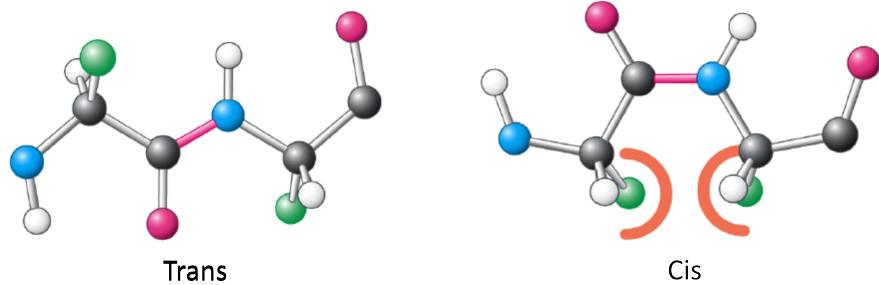
2.4.3 Proteinstruktur

Die Struktur eines Proteins ist von großer Wichtigkeit für ihre Funktion, eine fehlerhafte Proteinstruktur kann zum Ausfall der ursprünglichen Proteinfunktion führen. In der Biochemie werden vier hierarchisch angeordnete Strukturebenen in Proteinen unterschieden:

- Primärstruktur – die Aminosäuresequenz (Abfolge der Aminosäuren) der Peptidkette
- Sekundärstruktur – die räumliche Struktur eines lokalen Bereiches im Protein (hauptsächlich α -Helix und β -Faltblatt)
- Tertiärstruktur – die räumliche Struktur einer Untereinheit
- Quartärstruktur – die räumliche Struktur des gesamten Proteinkomplexes mit allen Untereinheiten

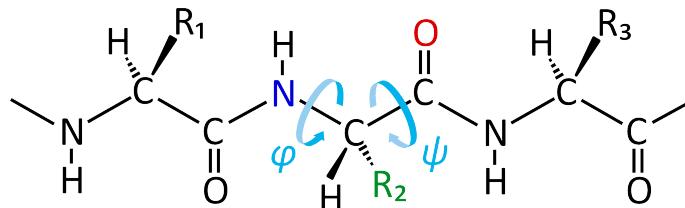
Grundsätzlich könne alle einfach-gebunden Atome um ihre Achse rotieren und damit die Struktur eines Proteins verändern. Obwohl die Peptidbindung nicht frei drehbar ist, tauchen zwei verschiedene Konfigurationen auf. Die Konfigurationen heißen Cis- und Trans-Isomerie, wobei aufgrund **sterischer Hemmung** in der Natur hauptsächlich die Trans-Konfiguration angenommen wird. Sterische Hemmung heißt, dass sich die

2 BAUSTEINE DER ZELLE



räumliche Ausdehnung einer funktionellen Gruppe auf die Struktur oder eine Reaktion auswirken kann.

Für eine allgemeine Aminosäure ist es interessant, die statistische Verteilung der Drehwinkel bezüglich eines Atoms (z. B. eines C_α -Atoms) zu wissen. Dafür definiert man zwei Winkel φ und ψ , welche es erlauben, die Drehungskonfiguration der Aminosäuren zu quantifizieren.



Wird die Auftrittshäufigkeit der verschiedenen Winkel in ein Diagramm aufgetragen (dem Ramachandran-Plot), können die jeweiligen Typen von Protein-Molekülen bestimmt werden. Man kann anhand eines Ramachandran-Plots auch die Häufigkeit von α -Helizes, β -Faltblättern und anderer Protein-Sekundärstrukturen im Molekül abschätzen. Hintergrund für die verschiedenen Auftrittswahrscheinlichkeiten der Drehwinkel liegen in der zugrundeliegenden Potentiallandschaft (niedrigere Energien treten häufiger auf, vgl. Boltzmann-Verteilung). Die wesentlichen Bestandteile des Gesamtpotentials $E(\varphi_i, \psi_i)$ der i -ten Aminosäure sind:

- die *van-der-Waals-Abstoßung* (beschrieben durch das Lennard-Jones-Potential)

$$E_{kn} = -\frac{A_{kn}}{r^6} + \frac{B_{kn}}{r^{12}} \quad (2.21)$$

- das *Coulomb-Potential*

$$E_C = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon} \sum_{i \neq j} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2.22)$$

- das intrinsische *Torsionspotential* der Einzelbindungen

$$E_{\text{tor}}(\varphi_i, \psi_i) = -E_\varphi^0(1 + \cos(3\varphi)) + E_\psi^0(1 + \cos(3\psi)) \quad (2.23)$$

2 BAUSTEINE DER ZELLE

wobei $E_\varphi^0, E_\psi^0 \approx 1 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$ die Barrierenhöhe zwischen Minima bei $60^\circ, 180^\circ, 300^\circ$ sind

Summiert man nun die van-der-Waals-Abstoßung über alle Atompaare k, n deren Distanz von φ_i und ψ_i abhängen und vernachlässigt Lösungsmittelinteraktionen, lautet das Gesamtpotential:

$$E(\varphi_i, \psi_i) = \sum_{k,n} E_{kn}(\varphi_i, \psi_i) + E_C(\varphi_i, \psi_i) + E_{\text{tor}}(\varphi_i, \psi_i) \quad (2.24)$$

Wie oben bereits erwähnt sind die häufigsten Sekundärstrukturen die α -Helix und das β -Faltblatt. Die α -Helix ist eine (meist) rechtshändig gedrehte Spirale mit durchschnittlich 3,6 Aminosäureseitenketten pro Umdrehung. Die Seitenketten zeigen dabei nach außen. Stabilisiert wird die α -Helix durch eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Sauerstoff der Carbonylgruppe der n -ten und dem Wasserstoff der Aminogruppe der $(n+3)$ -ten Aminosäure desselben Moleküls. Das β -Faltblatt besitzt aufgrund der Seitenketten nicht flache räumliche Struktur, sondern ist ziehharmonikaähnlich geriffelt. Die Polypeptidketten eines Faltblattes können auf unterschiedliche Weise miteinander verknüpft sein:

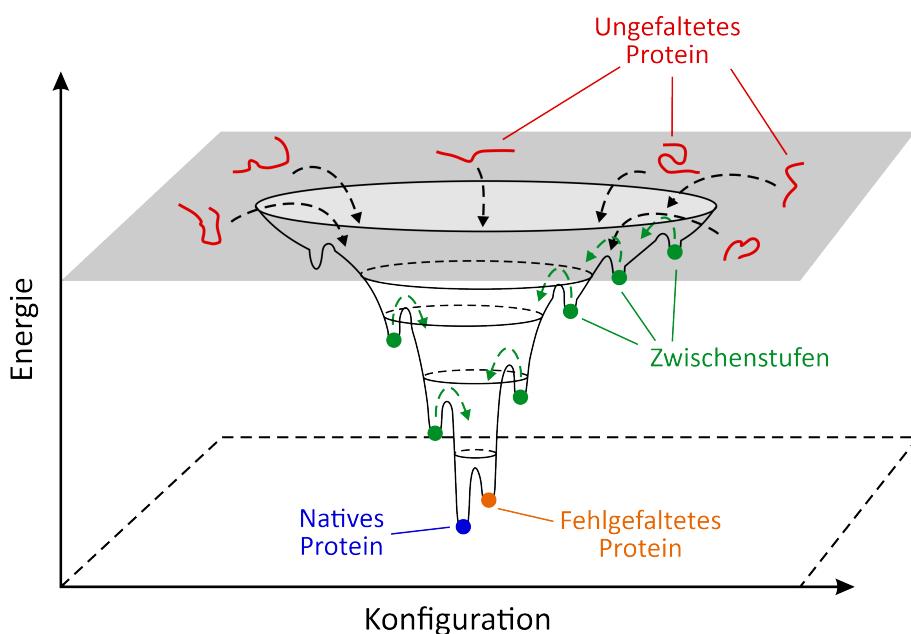
- **Antiparallele Verknüpfung:** Die Carbonyl- und Aminogruppen eines Strangs sind jeweils über Wasserstoffbrückenbindungen mit der Amino- und Carbonylgruppe des anderen Strangs verbunden
- **Parallele Verknüpfung:** Die NH-Gruppe des einen Strangs ist mit der CO-Gruppe des anderen Strangs über eine Wasserstoffbrücke verknüpft. Die Carbonylgruppe hingegen bildet eine Wasserstoffbrückenbindung mit der Aminogruppe aus, die zwei Reste entfernt vom jeweiligen Partner auf dem anderen Strang liegt. Durch diese Verbindungsweise ist jede Aminosäure des einen Strangs mit zwei Aminosäuren des anderen Strangs verbunden

2.4.4 Proteinfaltung

Im Allgemeinen kann nur ein sehr geringer Anteil der möglichen Proteine eine funktionale Struktur durch Faltung ausbilden. Betrachtet man ein Protein aus 300 Aminosäuren, so gäbe es theoretisch möglich $20^{300} \approx 2 \cdot 10^{390}$ Konfigurationen, doch nur etwa $1/10^9$ sind thermodynamisch stabil und bilden eine gefaltete Struktur aus. Der Faltungsvorgang ist hoch kooperativ, d. h. ein Protein liegt entweder im gefalteten oder ungefalteten Zustand vor; die Strukturen bilden sich nicht nacheinander, da die stabilisierenden Wechselwirkungen zu schwach wären das Protein so zu stabilisieren. Dies führt zu einem Problem, dem **Levinthal-Paradox** oder Faltungsproblem: schon für ein kleines Protein aus 100 Aminosäuren mit jeweils (stark vereinfacht) 3 möglichen Zuständen gäbe es $3^{100} \approx 5 \cdot 10^{47}$ Möglichkeiten das Protein zu falten. Nimmt man an, das Protein würde

3 ENZYME

mit 10^{-13} Sekunden pro Schritt (etwa die phononische Eigenschwingung der Proteine) die verschiedenen Konfigurationen durchtesten bis es zu einer stabilen Faltungankäme, dann dauert es im schlimmsten Fall $5 \cdot 10^{34} \text{ s} \approx 10^{27} \text{ Jahre}$, bis es eine erreicht hat. Wenn die Proteinfaltung also nur eine zufällige Permutation aller Möglichkeiten ist, dann könnten keine gefalteten Proteine beobachtet werden. Die Erklärung dafür, dass Proteinfaltung dennoch beobachtet werden kann, liegt in der Energetik von Proteinen: der angenommene gefaltete Endzustand entspricht dem Zustand mit der niedrigsten Energie. Damit ist Proteinfaltung ein thermodynamischer Vorgang, bei welchen die Energie des Proteins minimiert wird.



Anschaulich kann dieser Vorgang mit dem **Faltungstrichter** (Folding Funnel) gezeigt werden: die weite Öffnung des Trichters entspricht allen möglichen Konfigurationen. Bei Abnahme der Energie nehmen auch die Konfigurationsmöglichkeiten ab. Die lokalen Minima an den Seiten des Trichters stehen für die semistabilen Zwischenstufen, die abhängig von ihrer Tiefe die Bildung der nativen Struktur erleichtern oder behindern können. Im unteren Bereich befindet sich der native Zustand mit einer genau definierten Konfiguration.

3 Enzyme

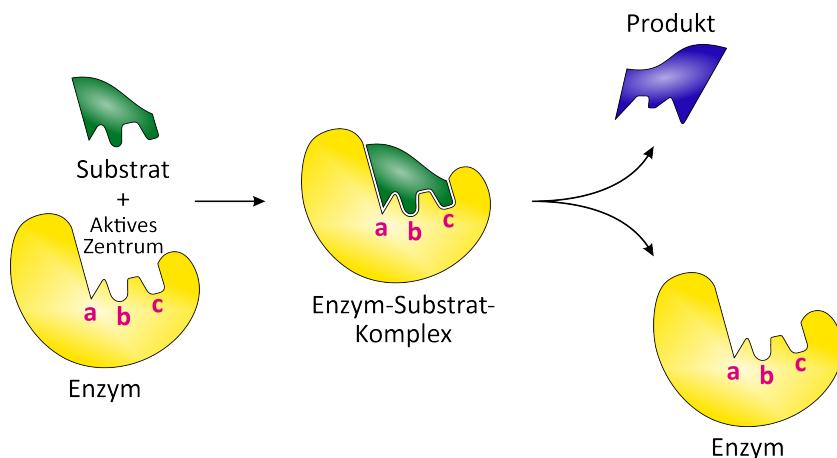
Ein Enzym ist ein Biokatalysator, welches die Aktivierungsenergie erniedrigt und eine chemische Reaktion beschleunigen oder erst möglich machen kann. Enzyme verschieben dabei nicht das chemische Gleichgewicht einer Reaktion.

Enzyme binden an Substrate nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip: nur Substrate, welche

3 ENZYME

Enzym	Nichtenzymatische Halbwertszeit	Rate ohne Katalysator k_{un} (s^{-1})	Rate mit Katalysator k_{cat} (s^{-1})	Verbesserungsfaktor $\frac{k_{cat}}{k_{un}}$
OMP-Decarboxylase	78 000 000 a	$2.8 \cdot 10^{-16}$	39	$1.4 \cdot 10^{17}$
Staphylococcalnuklease	130 000 a	$1.7 \cdot 10^{-12}$	95	$5.6 \cdot 10^{14}$
AMP-Nukleosidase	69 000 a	$1.0 \cdot 10^{-11}$	60	$6.0 \cdot 10^{12}$
Carboxypeptidase A	7.3 a	$3.0 \cdot 10^{-9}$	578	$1.9 \cdot 10^{11}$
Ketosteroidisomerase	49 d	$1.7 \cdot 10^{-7}$	66 000	$3.9 \cdot 10^{11}$
Triosephosphatisomerase	1.9 d	$4.3 \cdot 10^{-6}$	4300	$1.0 \cdot 10^9$
Chorismatmutase	7.4 h	$2.6 \cdot 10^{-5}$	50	$1.9 \cdot 10^6$
Carboanhydrase	5 s	$1.3 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^6$	$7.7 \cdot 10^6$

die richtige räumliche Struktur aufweisen, können mit den entsprechenden Gegenstellen am Enzym einen Enzym-Substrat-Komplex bilden und reagieren.



Da Enzyme verschiedene chemische Reaktionen katalysieren, benötigen sie häufig Kofaktoren, d. h. zusätzliche Moleküle und Elemente, die im Proteinbaukasten nicht vorhanden sind. Beispiele für Kofaktoren sind:

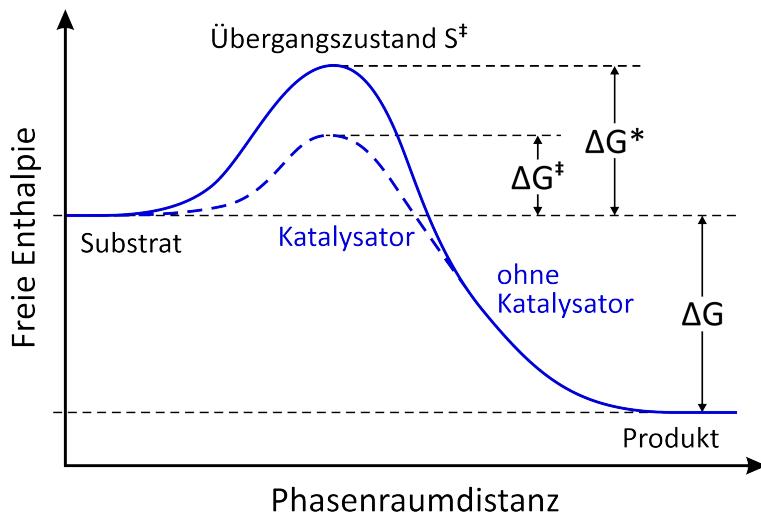
- Metalle (z. B. Zn, Fe)
- kleine organische Moleküle (z. B. Vitamine)
- angebunden: Prosthetische Gruppen (nicht peptidische Einheit)
- nicht angebunden: co-Substrate

Enzyme können je nach katalysierender Reaktion in sieben Klassen eingeteilt werden.

Anschaulich mit einer eindimensionalen Energielandschaft gesprochen, senkt das Enzym die Barriere zwischen Substrat und Produkt ab.

3 ENZYME

Klasse	Reaktionstyp	Beispiele
Oxidoreduktase	Katalysieren Redoxreaktionen	Dehydrogenase Oxidase
Transferase	Katalysieren die Übertragung einer funktionalen Gruppe	Aminotransferase Kinase
Hydrolase	Katalysieren die hydrolytische Spaltung	Phosphatase Peptidase
Lyase	Nicht-hydrolytische Addition oder Eliminierung von Molekülgruppen	Decarboxylase Synthase
Isomerase	Katalysieren die intramolekulare Umwandlung, z. B. Isomerisierung	Razemase Mutase
Ligase	Katalysieren die kovalente Verknüpfung mittels energiereicher Kofaktoren	Carboxylase Triosephosphatisomerase
Translokase	Katalysieren den Transport von Stoffen an oder durch Zellmembranen	Ornithin-Translokase Carnitin-Translokase



Für die Reaktionsgeschwindigkeit in Hinrichtung $k_{\text{hin}}^{\text{un/cat}}$ gilt mit der Energie der Barrieren:

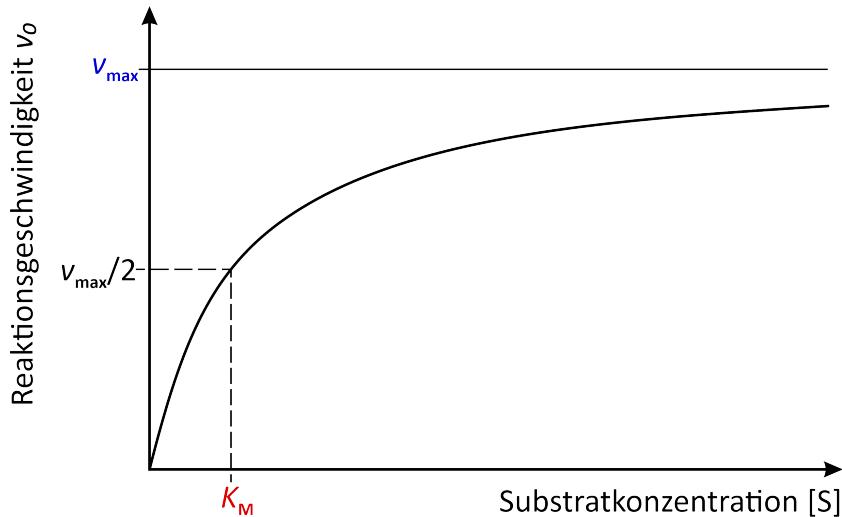
$$k_{\text{hin}}^{\text{un}} = A_{\text{hin}} e^{-\frac{\Delta G^*}{k_B T}} \quad (3.1)$$

$$k_{\text{hin}}^{\text{cat}} = A_{\text{hin}} e^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{k_B T}}. \quad (3.2)$$

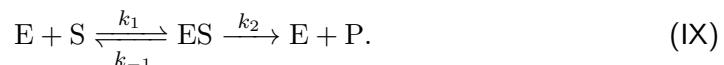
Da $\Delta G^* > \Delta G^\ddagger$ ist $k_{\text{hin}}^{\text{un}} < k_{\text{hin}}^{\text{cat}}$, die Reaktion läuft also schneller ab. Damit es überhaupt zu einer Reaktion kommt, muss das Enzym an den Übergangszustand binden und dafür molekular erkennen können.

3 ENZYME

3.1 Enzymkinetik



Eine enzymatische Reaktion (z. B. Sucrose + H₂O → Glucose + Fructose) lässt sich in zwei Phasen zerlegen, die Bindung des Substrates S an das Enzym E und die Umsetzung des resultierenden Enzym-Substrat-Komplexes ES in Enzym und Produkt P:



Die Geschwindigkeitskonstanten k_1, k_{-1} beschreiben das Gleichgewicht zwischen Substrat, Enzym und Enzym-Substrat-Komplex, k_2 beschreibt die Umwandlung von Enzym-Substrat-Komplex zu Enzym und Produkt. Nun will man die Geschwindigkeit v , mit welcher das Produkt P gebildet wird, bestimmen. Bekanntermaßen lauten die Reaktionsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit der entsprechenden Stoffkonzentrationen [X]:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \quad (3.3)$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES]. \quad (3.4)$$

Diese Gleichungen sind im Allgemeinen nicht-linear und nicht integrierbar, um sie dennoch lösen zu können betrachtet man eine Näherung: für Substratkonzentrationen $[S] \gg [E]_0$ steigt ab $t = 0$ die Produktionsrate an, bis alle Enzyme ihr Substrat gebunden haben und sich ein stationärer Zustand eingestellt hat mit konstanter Produktionsrate. $[S]$ kann dann über einen größeren Zeitraum konstant angenommen werden, weil die wenigen Enzyme den großen Vorrat kaum reduzieren können, selbst nach vielen Zyklen nicht. Für die Änderung der Konzentration des Enzym-Substrat-Komplexes gilt damit

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \quad (3.5)$$

3 ENZYME

und folglich für Gleichung (3.4)

$$\begin{aligned} k_1[E][S] &= k_{-1}[ES] + k_2[ES] \\ [E][S] &= \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}[ES]. \end{aligned} \quad (3.6)$$

Die Konzentration der freien Enzyme $[E]$ entspricht der Gesamtkonzentration der Enzyme $[E]_0$ abzüglich der Konzentration der Enzym-Substrat-Komplexe $[ES]$:

$$[E] = [E]_0 - [ES]. \quad (3.7)$$

Kombiniert man Gleichung (3.7) mit (3.6) und formt um, erhält man für die Konzentration der Enzym-Substrat-Komplexe

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}. \quad (3.8)$$

Setzt man das Ergebnis in Gleichung (3.3) ein und führt noch die maximale Geschwindigkeit der enzymalen Reaktion $v_{\max} = k_2[E]_0$ und die Michaelis-Menten-Konstante $K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$ ein, folgt die Michaelis-Menten-Gleichung:

$$v = \frac{v_{\max}[S]}{K_M + [S]}$$

(3.9)

Um zu überprüfen, dass v_{\max} wirklich die maximale Geschwindigkeit ist, bildet man den Grenzwert für große Substratkonzentrationen:

$$\lim_{[S] \rightarrow \infty} \frac{v_{\max}[S]}{K_M + [S]} = \lim_{[S] \rightarrow \infty} \frac{v_{\max}}{\frac{K_M}{[S]} + 1} = v_{\max}. \quad (3.10)$$

Für eine Konzentration, die der Michaelis-Menten-Konstante entspricht, ist die Produktionsgeschwindigkeit halbmaximal:

$$v = \frac{v_{\max} K_M}{K_M + K_M} = \frac{v_{\max}}{2}. \quad (3.11)$$

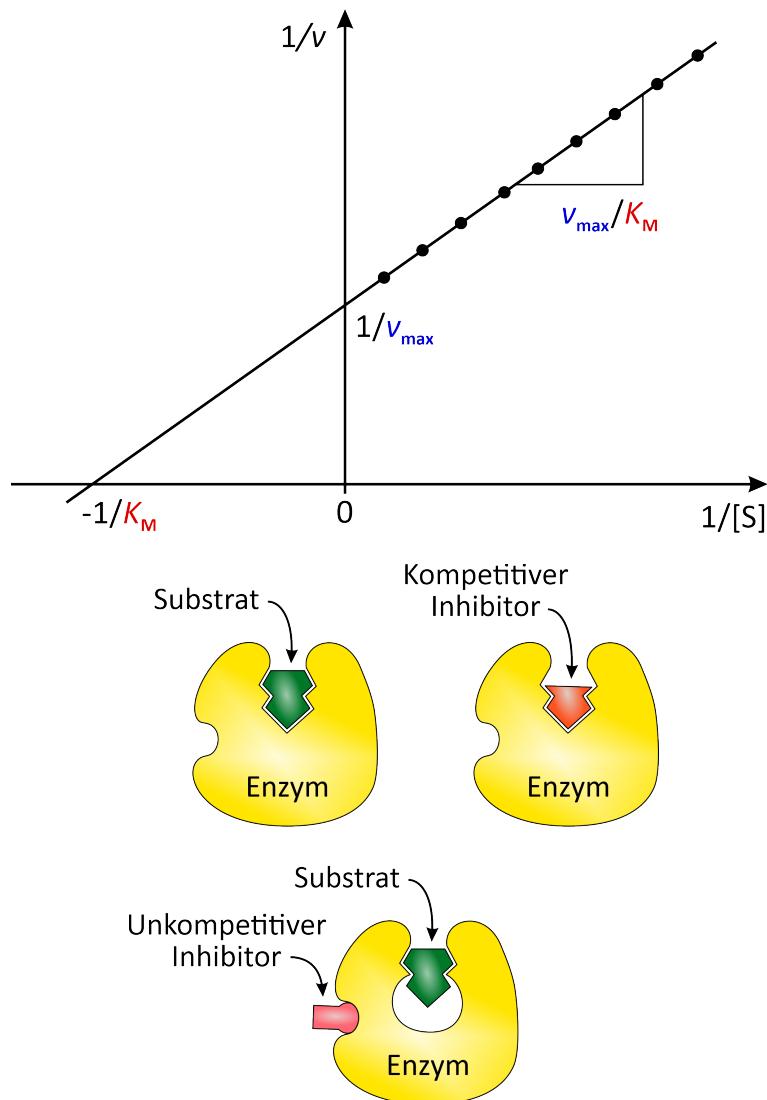
3.1.1 Linearisierung der Michaelis-Menten-Gleichung

Für die experimentelle Bestimmung von v_{\max} und K_M aus einem Satz Messdaten bietet es sich an, die Michaelis-Menten-Gleichung graphisch zu linearisieren. Man invertiert dafür einfach die Gleichung und erhält:

$$\frac{1}{v} = \left(\frac{v_{\max}}{K_M} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}, \quad (3.12)$$

nun können aus der Steigung und dem y -Achsenabschnitt einer Gerade durch die Messpunkte die entsprechenden Größen bestimmt werden. Der resultierende Graph wird Lineweaver-Burk-Graph genannt.

3 ENZYME



3.2 Gehemmte Enzymkinetik

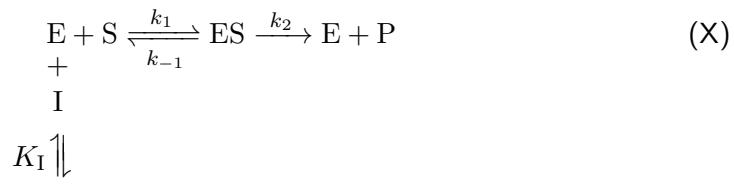
Enzymhemmung ist die Hemmung einer enzymatischen Reaktion durch einen Hemmstoff, dem *Inhibitor*. Dabei wird die Geschwindigkeit der katalysierten Reaktion herabgesetzt.

3.2.1 Kompetitive Inhibition

Kompetitive Inhibitoren sind Substanzen, die mit dem Substrat um die Bindungsstelle des Enzyms konkurrieren. Sie werden nicht umgesetzt und können dadurch vom Substrat

3 ENZYME

wieder verdrängt werden. Der Mechanismus der kompetitiven Hemmung lautet wie folgt:



Hierbei bezeichnet K_I die Gleichgewichtskonstante der Reaktion $E + I \rightleftharpoons EI$. Zu sehen ist, dass das Enzym E das Substrat S und den Inhibitor I nicht gleichzeitig binden kann. Durch die reversible Bindung von S bzw. I an E entsteht ein Gleichgewicht zwischen freiem Enzym E, dem Enzym-Substrat-Komplex ES und dem Enzym-Inhibitor-Komplex EI. Analog zur ungehemmten Enzymkinetik gilt für die Reaktionsgeschwindigkeiten:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \tag{3.13}$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES]. \tag{3.14}$$

Wieder soll ein Fließgleichgewicht vorliegen, woraus für die Konzentration der freien Enzyme $[E]$ folgt:

$$[E] = K_M \frac{[ES]}{[S]}, \tag{3.15}$$

kombiniert mit der Definition der Gleichgewichtskonstante K_I gilt für die Konzentration der Enzym-Inhibitor-Komplexe $[EI]$:

$$[EI] = \frac{[E][I]}{K_I} = K_M \frac{[ES]}{[S]} \frac{[I]}{K_I}. \tag{3.16}$$

Ungleich zur ungehemmten Enzymkinetik gilt für die Gesamtkonzentration $[E]_0$ der Enzyme

$$[E]_0 = [E] + [EI] + [ES] \tag{3.17}$$

und somit für die Konzentration der Enzym-Substrat-Komplexe $[ES]$:

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [S]}. \tag{3.18}$$

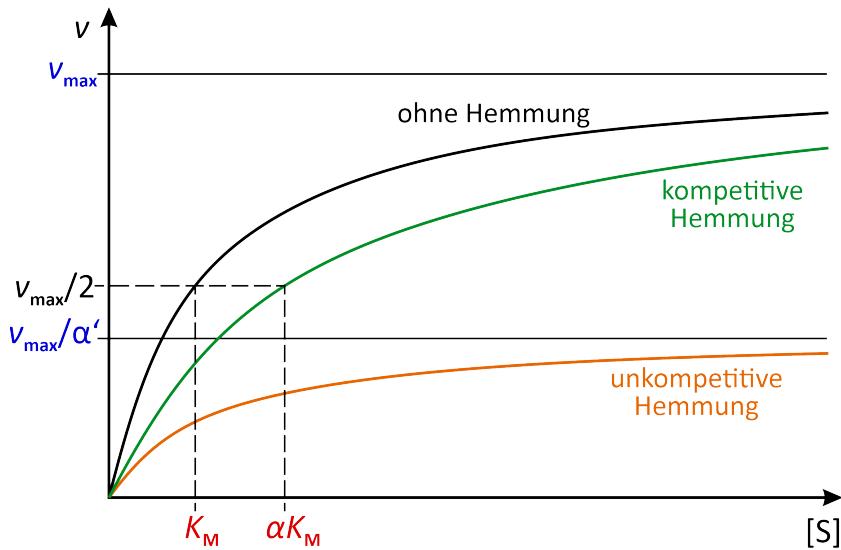
Eingesetzt in Gleichung (3.13) und mit der Definition $\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$ folgt für die Reaktionsgeschwindigkeit:

$v = \frac{v_{\max}[S]}{\alpha K_M + [S]}$

(3.19)

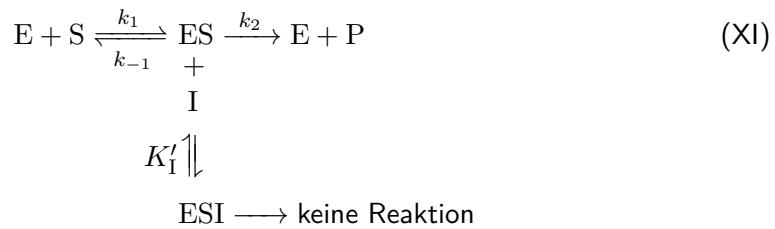
d. h. die Michaelis-Menten-Konstante K_M wird um einen Faktor $\alpha > 1$ erhöht, während die maximale Geschwindigkeit gleich bleibt. Ein Anwendungsbeispiel von kompetitiver Hemmung ist die Behandlung einer Ethylglykolvergiftung. Ethylglykol wird durch den Körper über Alkoholdehydrogenase in Oxalsäure abgebaut, welche aber giftig ist. Um dem entgegen zu wirken, wird Ethanol verabreicht und die Alkoholdehydrogenase kompetitiv gehemmt.

3 ENZYME



3.2.2 Unkompetitive Inhibition

Neben der kompetitiven Hemmung kommt auch die unkompetitive Hemmung vor. Dabei geht der Inhibitor I nur mit dem Enzym-Substrat-Komplex ES eine Reaktion ein, der so resultierende Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplex ESI kann nicht mehr reagieren:



Hier bezeichnet K'_I die Gleichgewichtskonstante der Reaktion $ES + I \rightleftharpoons ESI$. Ähnlich der vorigen Rechnung, aber mit dem Unterschied, dass für die Gesamtkonzentration $[E]_0$ der Enzyme

$$[E]_0 = [E] + [ESI] + [ES] \tag{3.20}$$

gilt, folgt für die Reaktionsgeschwindigkeit des Produktes P:

$$v = \frac{v_{max}[S]}{K_M + \alpha'[S]} \tag{3.21}$$

wobei $\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I}$ gilt. Leicht umgeformt folgt für die Gleichung:

$$v = \frac{\left(\frac{v_{max}}{\alpha'}\right)[S]}{\left(\frac{K_M}{\alpha'}\right) + [S]}, \tag{3.22}$$

d. h. die Michaelis-Menten-Konstante K_M und die maximale Geschwindigkeit v_{max} werden um den Faktor $\alpha' > 1$ reduziert.

3 ENZYME

3.3 Kooperativität und Allosterie

Proteine aus mehreren ähnlichen Untereinheiten können das Phänomen der Kooperativität zeigen: die Bindungsstärke eines Teilproteins hängt davon ab, wie viele der restlichen Untereinheiten bereits ein Substrat tragen. Wird die Bindung zunehmend stärker, ergibt sich das Phänomen der positiven Kooperativität. Behindern sich die Substrate gegenseitig, so dass die letzten Bindungsplätze mit niedriger Bindungsstärke eingenommen werden, folgt das Phänomen der negativen Kooperativität. Häufig hängen Allosterie und Kooperativität zusammen. Allosterie bedeutet die Veränderung der Konformation unter Einfluss des aktiven Bindungszentrums, häufig führt dies zu einer Änderung der Bindungsstärke des Proteins.

Ein Beispiel eines allosterischen Proteins ist das Hämoglobin Hb, bei dem die Bindungsstärke des Sauerstoffs O_2 davon abhängt, wie viele der insgesamt vier O_2 -Bindungsplätze bereits besetzt sind. Bei höheren Sauerstoffkonzentrationen ist der Übergang von einem niederbindungsfähigen *T-Zustand* in den hochbindungsfähigen *R-Zustand* festzustellen. Da nachfolgende O_2 -Moleküle zunehmend stärker gebunden werden, liegt eine positive Kooperativität vor. Um dies zu zeigen, soll zuerst ein nichtkooperatives, sauerstoffbindendes Protein wie das in Muskeln vorkommende Myoglobin Mb betrachtet werden. Der Sättigungsgrad Y_{Mb} der Muskeln mit Sauerstoff in Abhängigkeit der Sauerstoffkonzentration $[O_2]$ kann über ein modellhaftes Gleichgewicht von Mb und O_2 berechnet werden:



mit der Gleichgewichtskonstante $K_{50}^{Mb} = \frac{[Mb][O_2]}{[MbO_2]}$. Die Sättigung ist dann gerade der Anteil der MbO_2 -Moleküle an der Gesamtanzahl des Myoglobins:

$$Y_{Mb} = \frac{[MbO_2]}{[Mb] + [MbO_2]}. \quad (3.23)$$

Erweitert man den Bruch mit $\frac{[O_2]}{[MbO_2]}$, kann die Sättigung auf die Konzentration des Sauerstoffs und der Gleichgewichtskonstante zurückgeführt werden:

$$Y_{Mb} = \frac{[O_2]}{[O_2] + K_{50}^{Mb}}. \quad (3.24)$$

Jetzt ist auch offensichtlich, dass bei einer Konzentration des Sauerstoffs von K_{50}^{Mb} eine Sättigung von $Y_{Mb} = 50\%$ vorliegt:

$$Y_{Mb} = \frac{K_{50}^{Mb}}{K_{50}^{Mb} + K_{50}^{Mb}} = \frac{1}{2}. \quad (3.25)$$

Vor allem im Kontext von Gewebe und Sauerstoffgehalt ist es nicht sinnvoll von der (nicht leicht zu messenden) Sauerstoffkonzentration $[O_2]$ zu sprechen, sondern vom einfacher zu messenden (osmotischen) Partialdrucks des Sauerstoffs P_{O_2} . Mit dem zu

3 ENZYME

K_{50}^{Mb} äquivalent definierten Partialdruck P_{50}^{Mb} (also $Y_{\text{Mb}}(P_{50}^{\text{Mb}}) = 50\%$), folgt für den Sättigungsgrad:

$$Y_{\text{Mb}} = \frac{P_{\text{O}_2}}{P_{\text{O}_2} + P_{50}^{\text{Mb}}} \quad (3.26)$$

Diese Gleichung beschreibt ähnlich der Michaelis-Menten-Kinetik eine Hyperbel. Für den Sättigungsgrad Y_{Hb} eines hypothetischen Gleichgewichts eines n Sauerstoffmoleküle fassenden Hämoglobins gilt:



mit der Gleichgewichtskonstante $K_{50}^{\text{Hb}} = \frac{[\text{Hb}][\text{O}_2]^n}{[\text{Hb(O}_2)_n]}$. Analog zum Sättigungsgrad im Falle des Myoglobins gilt für Y_{Hb} :

$$Y_{\text{Hb}} = \frac{[\text{Hb(O}_2)_n]}{[\text{Hb}] + [\text{Hb(O}_2)_n]} \quad (3.27)$$

Wieder kann der Sättigungsgrad in Abhängigkeit des Partialdrucks des Sauerstoffs P_{O_2} und einem Halbwertspartialdruck P_{50}^{Hb} umgeformt werden:

$$Y_{\text{Hb}} = \frac{(P_{\text{O}_2})^n}{(P_{\text{O}_2})^n + (P_{50}^{\text{Hb}})^n} \quad (3.28)$$

Diese Funktion beschreibt eine sigmoidale Kurve, mit langsamen Wachstum am Anfang, einem rasanten Anstieg und einer schnellen Sättigung. Durch Kooperativität steigt die Effizienz des Sauerstofftransports um einen Faktor von 1,8, betrachtet man z. B. den Sättigungsgrad im Muskelgewebe bei $P_{\text{O}_2} = 20$ torr ($\approx 26,7$ hPa) mit dem im Lungengewebe bei $P_{\text{O}_2} = 100$ torr ($\approx 133,3$ hPa), so sind mit Myoglobin gerade 60% des Gewebes gesättigt, während es mit Hämoglobin annähernd 100% sind.

Das Verhältnis von sauerstofftragendem Hämoglobin, dem Oxyhäm, zum nicht-sauerstofftragendem Hämoglobin, dem Deoxyhäm, folgt aus dem Verhältnis der gesättigten Hämoglobine Y_{Hb} zu den ungesättigten Hämoglobinen $1 - Y_{\text{Hb}}$:

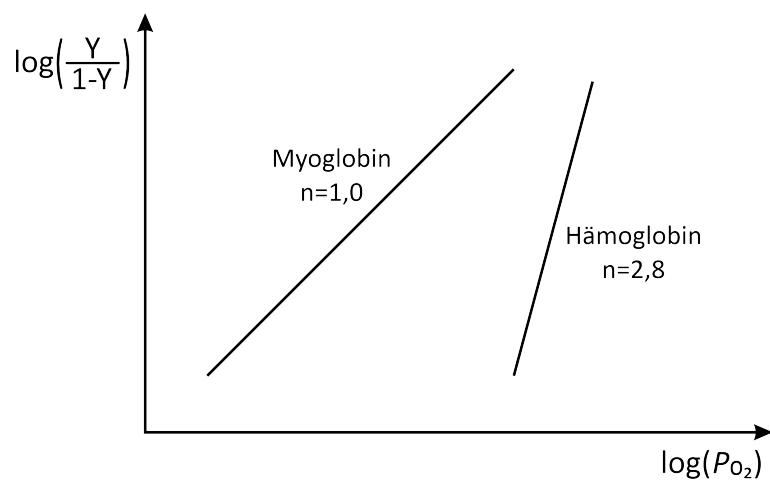
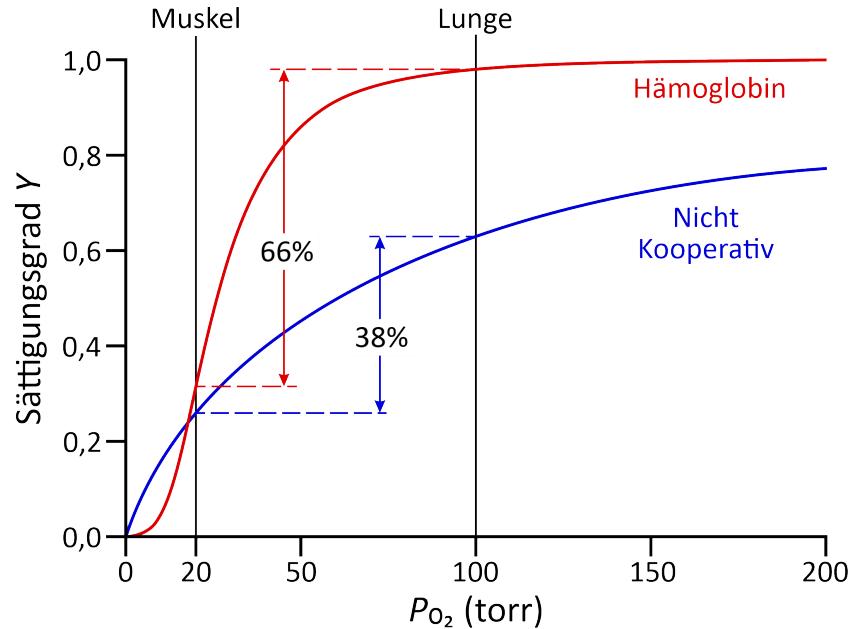
$$\frac{Y_{\text{Hb}}}{1 - Y_{\text{Hb}}} = \left(\frac{P_{\text{O}_2}}{P_{50}^{\text{Hb}}} \right)^n, \quad (3.29)$$

der Parameter n , der die Anzahl der gebundenen Moleküle beschreibt, wird in diesem Kontext als Hill-Koeffizient bezeichnet. Indem man beide Seiten der Gleichung logarithmiert

$$\log \left(\frac{Y_{\text{Hb}}}{1 - Y_{\text{Hb}}} \right) = n \log(P_{\text{O}_2}) - n \log(P_{50}^{\text{Hb}}) \quad (3.30)$$

kann der Hill-Koeffizient graphisch als Steigung einer Gerade im $\log \left(\frac{Y_{\text{Hb}}}{1 - Y_{\text{Hb}}} \right)$ - $\log(P_{\text{O}_2})$ -Diagramm (Hill-Diagramm) abgelesen werden.

3 ENZYME



4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE

4 Biologische Musterbildung und Morphogenese

4.1 Belousov-Zhabotinsky-Reaktion

Bei der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion handelt es sich um ein System mehrerer chemischer Reaktionen, das eine zeitliche Oszillation (bei Durchmischung) oder eine selbstorganisierte räumliche Struktur zeigt (ohne Durchmischung). Die Gesamtreaktion lautet



das heißt, Malonsäure reagiert mit Bromationen zu Bromidionen, Kohlendioxid und Wasser. Obwohl die Gesamtreaktion recht einfach ist, verfügt die Reaktion über verschiedene Reaktionsschritte R_i :

Weg A	R_1	$\text{BrO}_3^- + \text{Br}^- + 2 \text{H}^+ \longrightarrow \text{HBrO}_2 + \text{HOBr}$
	R_2	$\text{HBrO}_2 + \text{Br}^- + \text{H}^+ \longrightarrow 2 \text{HOBr}$
Weg B	R_3	$\text{BrO}_3^- + \text{HBrO}_2 + \text{H}^+ \longrightarrow 2 \text{BrO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
	R_4	$\text{Ce}^{3+} + \text{BrO}_2 + \text{H}^+ \longrightarrow \text{Ce}^{4+} + \text{HBrO}_2$
	R_5	$2 \text{HBrO}_2 \longrightarrow \text{BrO}_3^- + \text{HOBr} + \text{H}^+$
Oxidation	R_6	$4 \text{Ce}^{4+} + \text{BrCH}(\text{COOH})_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{HOBr} \longrightarrow 2 \text{Br}^- + 4 \text{Ce}^{3+} + 3 \text{CO}_2 + 6 \text{H}^+$

Manche der Reaktionen konkurrieren untereinander oder hängen voneinander ab, vor allem sind die Wege A und B miteinander gekoppelt. Um die physikalische Modellierung der Reaktionsgleichungen zu erleichtern, werden die folgenden Abkürzungen eingeführt:

HBrO ₂	Br ⁻	Ce ³⁺	BrO ₃ ⁻	HOBr	BrCH(COOH) ₂
X	Y	Z	A B	P	Q

Damit haben die Vergleichsreaktionen die Form:

Weg A	R_1	$A + Y + 2 \text{H}^+ \longrightarrow X + P$
	R_2	$X + Y + \text{H}^+ \longrightarrow 2P$
Weg B	R_3	$B + X + \text{H}^+ \longrightarrow 2X + 2Z$
	R_4	
	R_5	$2X \longrightarrow B + P + \text{H}^+$
Oxidation	R_6	$Z + Q + P \longrightarrow Y + 4 \text{Ce}^{3+} + 2 \text{CO}_2 + 6 \text{H}^+$

4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE

Fasst man die einzelnen Gleichungen zusammen, folgt für die Ratengleichung der Stoffkonzentrationen der Stoffe X, Y und Z:

$$\frac{d[X]}{dt} = \alpha[A][H^+]^2[Y] - \beta[H^+][X][Y] + \gamma[A][X][H^+] - \delta[X]^2 \quad (4.1)$$

$$\frac{d[Y]}{dt} = -\alpha[A][H^+]^2[Y] - \beta[H^+][X][Y] + \varepsilon[Z] \quad (4.2)$$

$$\frac{d[Z]}{dt} = \gamma[A][X][H^+] - \varepsilon[Z] \quad (4.3)$$

mit den Geschwindigkeitskonstanten $\alpha, \dots, \varepsilon$. Werden die Substitutionen

$$n_1 = \frac{\beta}{\alpha[A]}x \quad n_2 = \frac{\beta}{\gamma[A]}y \quad n_3 = \frac{\beta\varepsilon}{\alpha\gamma[A]^2}z \quad w = \frac{\varepsilon}{\sqrt{\alpha\gamma[A]}}$$

$$d\tau = \sqrt{\alpha\gamma[A]}dt \quad s = \sqrt{\frac{\gamma}{\alpha}} \quad q = \frac{\alpha\delta}{\beta\gamma}$$

auf die obigen Gleichungen angewendet, erhält man die **Field-Noyes-Gleichungen**:

$$\begin{aligned} \frac{dn_1}{d\tau} &= s(n_1 + n_2 - n_1 n_2 - q n_1^2) \\ \frac{dn_2}{d\tau} &= \frac{1}{s}(-n_2 - n_1 n_2 + n_3) \\ \frac{dn_3}{d\tau} &= w(n_1 - n_3) \end{aligned} \quad (4.4)$$

Die Field-Noyes-Gleichungen beschreiben eine nichtlineare, autokatalytische, gekoppelte Reaktion und können nur numerisch gelöst werden. Werden die Lösungstrajektorien in einen Phasenraum aufgetragen, ergeben sich charakteristische Kreisbahnen.

Mit den obigen Gleichungen lassen sich die zeitlichen Muster der Reaktion untersuchen. Für die räumliche Musterbildung betrachtet man eine nicht durchmischte Lösung, d. h. die Komponenten können nur noch lokal reagieren und der Stofftransport der einzelnen Reaktanten erfolgt nur über die Diffusion

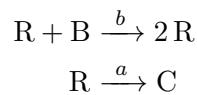
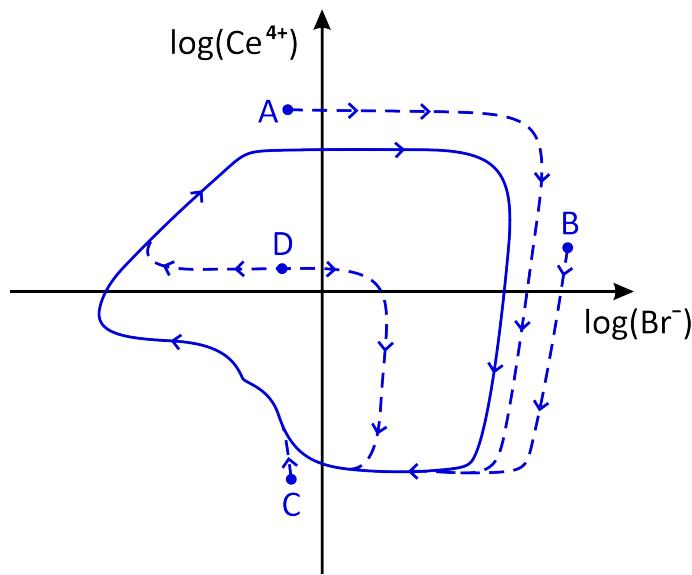
$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}. \quad (4.5)$$

4.2 Räuber-Beute-System

Ein weiteres einfaches oszillierendes System ist das bekannte Räuber-Beute-Modell. Vereinfachend soll angenommen werden, dass die Beute B auf eine unerschöpfliche Nahrungsquelle zugreifen kann und sich stetig mit der Rate c vermehrt, die Räuber R sich mit einer gewissen Rate b nach dem fressen der Beute vermehren und die Räuber mit einer gewissen Rate a sterben (C). In Reaktionsgleichungen ausgedrückt lauten die Zusammenhänge:



4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE



In Differentialgleichung ausgedrückt gilt für die Anzahl der Räuber bzw. der Beute:

$$\frac{d[R]}{dt} = -a[R] + b[R][B] \quad (4.6)$$

$$\frac{d[B]}{dt} = c[B] - d[R][B] \quad (4.7)$$

wobei die zusätzliche Kopplungskonstante d eingeführt wurde, um mögliche Unterschiede zwischen der Vermehrung der Räuber und der Fressrate einzubeziehen (wenn die Vermehrung gleich der Fressrate ist, gilt $b = d$). Die einfachste Lösung dieses Gleichungssystems ist die *stationäre Lösung*, das heißt weder die Anzahl der Beute noch der Räuber verändert sich:

$$\frac{d[R]}{dt} \stackrel{!}{=} 0 \quad \text{und} \quad \frac{d[B]}{dt} \stackrel{!}{=} 0. \quad (4.8)$$

Damit folgt für die entsprechenden Anzahlen:

$$[B] = \frac{a}{b} \quad \text{und} \quad [R] = \frac{c}{d}. \quad (4.9)$$

Um auch die nicht-stationären Lösungen zu finden, betrachtet man die Gleichung im Phasenraum. Dafür muss zuerst die zeitliche Abhängigkeit durch Teilen der beiden Gleichungen eliminiert werden:

$$\frac{d[R]}{d[B]} = \frac{[R](-a + b[B])}{[B](c - d[R])} \quad (4.10)$$

4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE

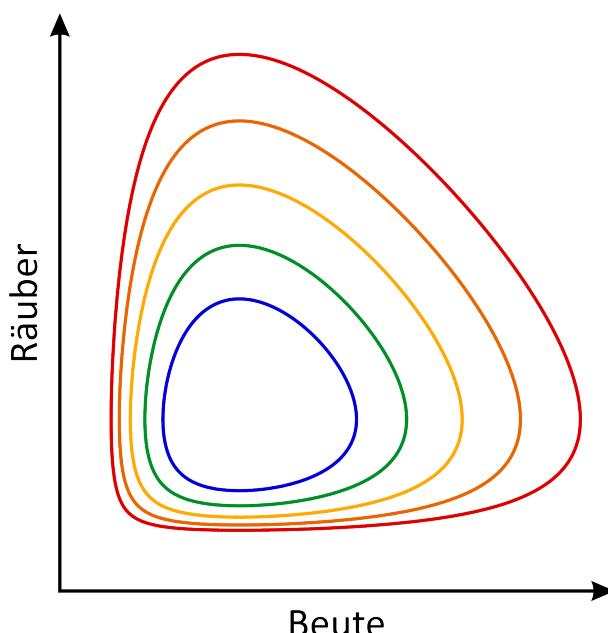
Durch Separation der Variablen lässt sich die Gleichung lösen zu

$$c \ln([R]) - d[R] = -a \ln([B]) + b[B] + \text{konst.} \quad (4.11)$$

womit für die Trajektorien im Phasenraum gilt:

$$c \ln([R]) - d[R] + a \ln([B]) - b[B] = \text{konst.} \quad (4.12)$$

Diese Gleichung lässt sich nicht analytisch nach einer der beiden Variablen auflösen, man kann sie aber graphisch am Computer auswerten.

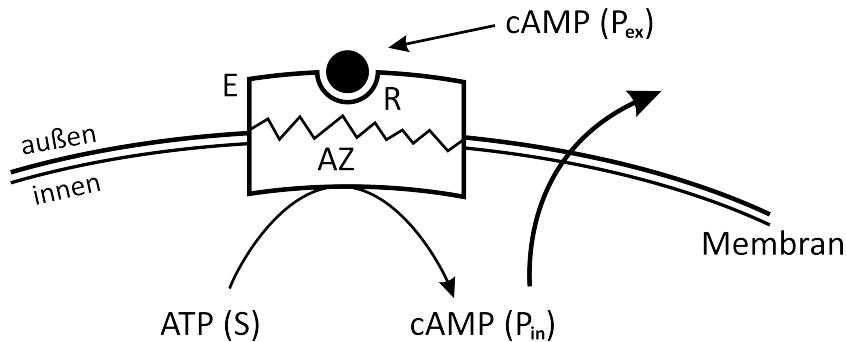


4.3 Goldbeter-Segel-Modell

Der Pilz *Dictyostelium discoideum* besitzt eine besondere Eigenschaft: bei ausreichender Verfügbarkeit von Nahrung lebt *Dictyostelium discoideum* als Einzeller und vermehrt sich durch Zellteilung, unterschreitet aber das Verhältnis zwischen der Menge an verfügbarer Nahrung und der Populationsdichte der Amöben einen kritischen Wert, so schließen sich viele der einzelligen Amöben zu einem vielzelligen Verband zusammen. Während dieser Hungerphase beginnen einige Amöben cAMP (Cyclisches Adenosinmonophosphat) als Hungersignal auszuscheiden. Das abgesonderte cAMP lockt andere Amöben an, die dann ihrerseits cAMP produzieren und ausscheiden. Die Amöben beginnen, sich in die Richtung der ansteigenden cAMP-Konzentration zu bewegen, dies wiederum führt zur Ausbildung der mehrzelligen Verbände. Die Aktivität der Amöben verhält sich dabei wie ein cAMP-gesteuerter Oszillator; es bilden sich räumliche Konzentrationswellen von cAMP aus, da die Aufnahme des Stoffes zu einer zeitlich versetzten Ausschüttung weiteren cAMPs führt.

4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE

Der Vorgang kann wie folgt beschrieben werden: ein cAMP (P_{ex}) aus der Umgebung trifft auf einen Rezeptor–Adenylatzyklase-Komplex RAZ auf der Zellmembran – die Adenylatzyklase ist ein Enzym, welches aus ATP (S) die cAMP (P_{in}) synthetisiert – und leitet die Ausschüttung der cAMP aus dem inneren des Pilzes in die Umgebung ein.



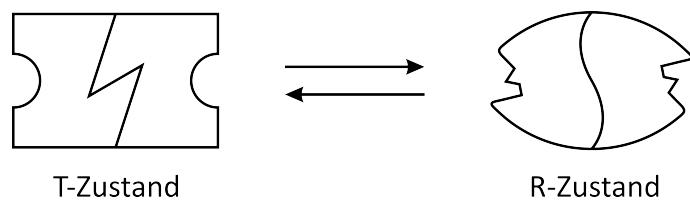
Für die Konzentrationsänderungen der einzelnen Stoffe gilt demnach

$$\frac{d[S]}{dt} = v - \sigma\Phi(P_{ex}, S) \quad (4.13)$$

$$\frac{d[P_{in}]}{dt} = \sigma\Phi(P_{ex}, S) - k_t[P_{in}] \quad (4.14)$$

$$\frac{d[P_{ex}]}{dt} = \frac{k_t}{h}[P_{in}] - k[P_{ex}]. \quad (4.15)$$

In den Gleichungen sind $\Phi(P_{ex}, S)$ die nicht-lineare Kooperativität des als allosterisches Enzym modellierten Rezeptor–Adenylatzyklase-Komplexes, v der Zufluss oder die Produktion von ATP in der Zelle, σ ein Maß für die Aktivität des Enzyms, k_t ist eine Translokationsrate (die Geschwindigkeit, mit welcher P_{in} nach außen diffundieren kann), h ist der Verdünnungsfaktor des P_{in} und k ist die Zerstörungsrate durch z. B. Phosphodiesterasen. Nun braucht es noch ein Modell für die Kooperativität $\Phi(P_{ex}, S)$ des Enzyms. Ein einfaches Modell ist das *MWC-Modell*: in ihr nimmt man an, dass das aus zwei Untereinheiten bestehende Enzym spontan (als Ganzes) von einem Zustand niedriger Substrataffinität (T) in einen Zustand hoher Substrataffinität (R) übergehen kann:



In Abwesenheit des Substrates sind beide Zustände also in einem chemischen Gleichgewicht

$$R_0 \rightleftharpoons T_0 \quad (\text{XVI})$$

4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE

mit der Gleichgewichtskonstante (allosterischen Konstante) $L = \frac{[T_0]}{[R_0]}$. Verbunden mit der Annahme, dass nur R Substrat binden kann (mit jeweils gleicher Dissiziationskonstante für 1. und 2. Substrat), also



folgt für die Gleichgewichtskonstante der Substratbindung durch das Enzym:

$$K_R = \frac{2[R_0][S]}{[R_1]} = \frac{[R_1][S]}{2[R_2]}. \quad (4.16)$$

Der zusätzliche Faktor 2 wurde eingeführt, da es pro Enzym zwei Stellen gibt, an denen das Substrat (ent-)binden kann. Mithilfe der beiden Konstanten K_R und L kann nun die Besetzungsgrad Y_{MWC} der aktiven Zentren in Abhängigkeit der Substratkonzentration $[S]$ bestimmt werden. Der Besetzungsgrad ist gegeben über

$$Y_{MWC} = \frac{[R_1] + 2[R_2]}{2([T_0] + [R_0] + [R_1] + [R_2])}, \quad (4.17)$$

aus der Gleichgewichtskonstante K_R folgt für $[R_1]$ und $[R_2]$:

$$[R_1] = \frac{2[R_0][S]}{K_R} \quad (4.18)$$

$$[R_2] = \frac{[R_1][S]}{2K_R} = \frac{[R_0][S]^2}{K_R^2} \quad (4.19)$$

und damit für Y_{MWC} :

$$Y_{MWC} = \frac{\frac{2[R_0][S]}{K_R} + \frac{2[R_0][S]^2}{K_R^2}}{2\left(L[R_0] + [R_0] + \frac{2[R_0][S]}{K_R} + \frac{[R_0][S]^2}{K_R^2}\right)}$$

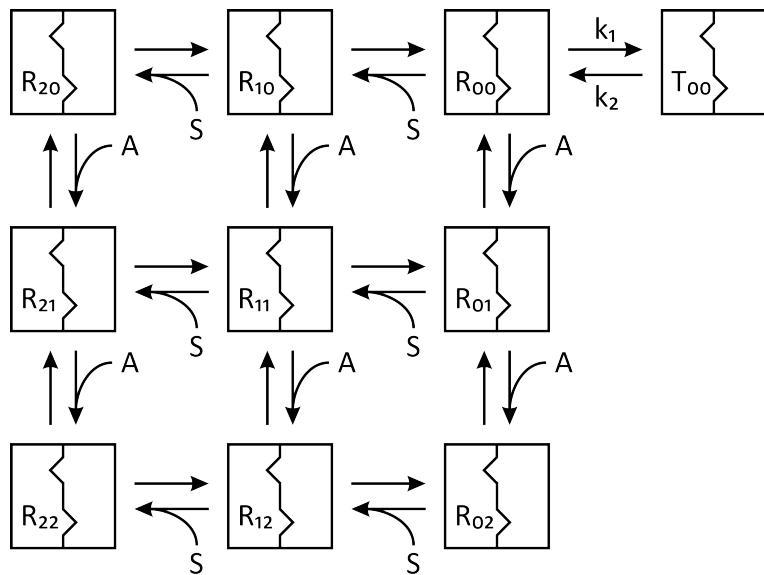
$$Y_{MWC} = \frac{[S]}{K_R} \frac{1 + \frac{[S]}{K_R}}{L + \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^2} \quad (4.20)$$

Der Besetzungsgrad hat die Form einer sigmoidalen Kurve, d. h. sie beschreibt die Kinetik kooperativer Enzyme, und führt multipliziert mit der maximalen Geschwindigkeit v_{\max} auf die Reaktionsgeschwindigkeit des Enzyms (und somit auch sigmoidal):

$$v = \frac{[S]}{K_R} \frac{1 + \frac{[S]}{K_R}}{L + \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^2} \cdot v_{\max}. \quad (4.21)$$

Die Aktivität des Enzyms ist in diesem Modell unabhängig von dem cAMP-Aktivator von außerhalb der Zelle. Um auch diesen zu betrachten, führt man ein erweitertes

4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE



Modell, das Modell nach Goldbeter und Segel, mit je 2 Bindungsstellen für Substrat und Aktivator ein.

In dem erweiterten Modell ist die Rolle des Aktivators P_{ex} im Wesentlichen die Stabilisierung und Differenzierung der R-Form. Analog zum MWC-Modell gilt für den Besetzungsgrad Y (mit den Abkürzungen $\alpha = \frac{[S]}{K_R}$ und $\gamma = \frac{[P_{\text{ex}}]}{K_R}$):

$$Y = \frac{[R_{10}] + 2[R_{20}] + [R_{11}] + 2[R_{21}] + [R_{12}] + 2[R_{22}]}{2([T_{00}] + [R_{00}] + [R_{10}] + [R_{20}] + [R_{01}] + [R_{11}] + [R_{21}] + [R_{02}] + [R_{12}] + [R_{22}])} \\ = \frac{\alpha(1 + \alpha + 2\gamma + 2\alpha\gamma + \gamma^2 + \alpha\gamma^2)}{L + 1 + 2\alpha + \alpha^2 + 2\gamma + 4\alpha\gamma + 2\alpha^2\gamma + \gamma^2 + 2\alpha\gamma^2 + \alpha^2\gamma^2}. \quad (4.22)$$

Nach weiterem Vereinfachen folgt für den Besetzungsgrad:

$$Y = \frac{\alpha(1 + \alpha)(1 + \gamma)^2}{L + (1 + \alpha)^2(1 + \gamma)^2} \quad (4.23)$$

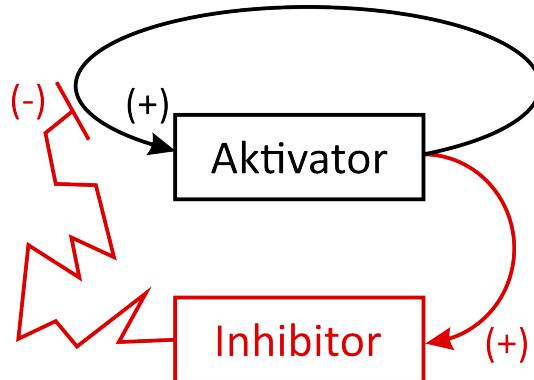
Die aus der allosterischen Steuerung der cAMP-Produktion (über den Rezeptor-Adenylatzyklase-Komplex) abgeleitete Funktion $\Phi(P_{\text{ex}}, S)$ führt zu einer starken Rückkopplung des cAMP auf seine Reproduktion.

4.4 Turner-Gierer-Meinhardt-Modell

Die in der Natur anzutreffenden Musterbildungsprozesse basieren alle auf einer Differenzierung (d. h. Spezialisierung) der zugrunde liegenden Zellen. Die Differenzierung von Zellen an einem Ort wird durch Konkurrenz eines Aktivators A und Inhibitors H kontrolliert; der Aktivator löst die Zelldifferenzierung aus, der Inhibitor hemmt nur. Der

4 BIOLOGISCHE MUSTERBILDUNG UND MORPHOGENESE

Aktivator sowie der Inhibitor werden lokal und in gekoppelten Reaktionen erzeugt. Die räumliche Ausbreitung der Stoffe erfolgt über Diffusion.



Der Aktivator wird in einer autokatalytischen Reaktion ständig produziert, wobei die Produktion des Inhibitors auf der Konzentration des Aktivators basiert. Die Inhibition ist langreichweitig, d. h. H diffundiert schneller als A. Durch Fluktuationen können lokal Überschüsse an Aktivator oder Inhibitor entstehen, diese Fluktuation werden durch die Autokatalyse verstärkt. Der Inhibitor kann das lokale Anwachsen von A nicht verhindern, da es schneller diffundiert, dies führt zu Bildung eines stabilen Profils von A und H. Für die Konzentration des Aktivators gilt somit

$$\frac{\partial [A]}{\partial t} = \frac{\rho}{[H]} [A]^2 - \mu[A] + D_A \frac{\partial^2 [A]}{\partial x^2} \quad (4.24)$$

mit der Zerfallskonstante μ , der Effizienz ρ der Produktion von A und der spezifischen Diffusionskonstante D_A . Analog gilt für die Konzentration des Inhibitors:

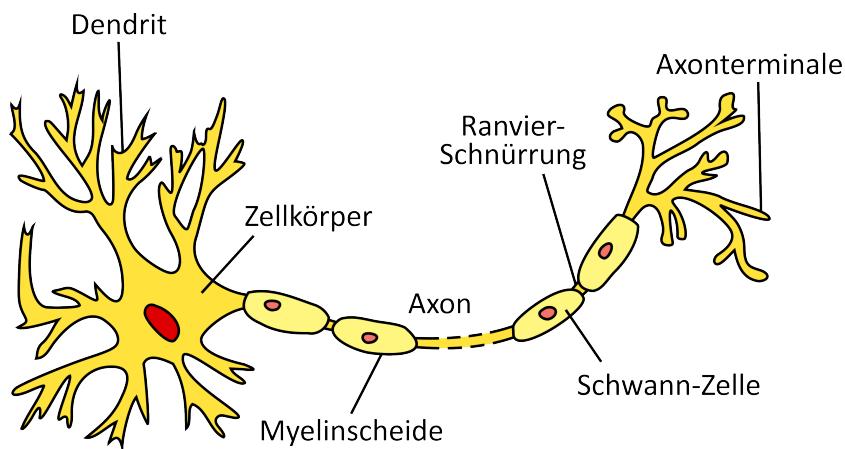
$$\frac{\partial [H]}{\partial t} = \rho'[A]^2 - \nu[H] + D_H \frac{\partial^2 [H]}{\partial x^2}, \quad (4.25)$$

wobei $D_H \gg D_A$. Der Ablauf der Musterbildung nach dem Turner-Gierer-Meinhardt-Modell kann also wie folgt beschrieben werden: zu Beginn sind der Aktivator und der Inhibitor überall im Gleichgewicht. Durch lokale Fluktuation in der Aktivator-Konzentration steigt diese lokal durch die Autokatalyse stark an. Wegen der lokalen Erhöhung der Aktivator-Konzentration wird auch eine lokale Erhöhung der Inhibitor-Konzentration ausgelöst. Die unterschiedlichen Diffusionskonstanten des Aktivators/Inhibitors führen zu einer viel schnelleren Ausbreitung des Inhibitors im Vergleich zum Aktivator. In entfernten Gebieten überwiegt also der Inhibitor und hemmt dort die Produktion des Aktivators, lokal aber überwiegt der Aktivator. Dies führt schlussendlich zu einer Ausdifferenzierung der Zellen und zur Musterbildung.

5 Nervenleitung

5.1 Physiologische Grundlagen

Nervenzellen (*Neuronen*) sind hochgradig auf die Leitung von elektrischen Signalen spezialisierte Zellen. Eine typische (Säugetier-)Nervenzelle ist aus Zellkörpern zweierlei Art aufgebaut: den *Dendriten* und dem *Axon*. Die verästelten Dendriten nehmen vornehmlich Erregung von anderen Zellen auf. Das von Nervengewebe (den Schwann-Zellen) umhüllte Axon eines Neurons kann über einen Meter lang sein und dient zunächst der Fortleitung einer Erregung dieser Zelle in die Nähe anderer Zellen. Das Axon ist spiralförmig eingewickelt in die Myelinscheide, eine lipidreiche Schicht, welche der Senkung von Membranleitwert und Membrankapazität dient und damit eine besonders schnell Erregungsleitung ermöglicht. Dabei wird eine Spannungsänderung über den Fortsatz weitergeleitet, indem kurzzeitige Ionenströme durch besondere Kanäle in der Zellmembran zugelassen werden.



Die Axonenden stehen über *Synapsen*, an denen die Erregung mittels Botenstoffen (Neurotransmittern) chemisch übertragen wird, in Kontakt zu anderen Nervenzellen oder Muskelzellen.

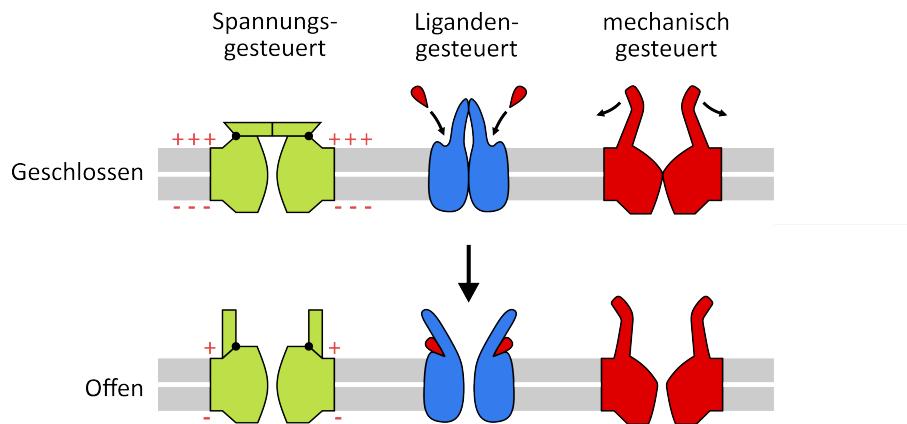
5.2 Elektrostatik der Nervenleitung

Das Axon besitzt als Struktur aufgebaut aus organischen Molekülen keine hohe Leitfähigkeit. Um dennoch elektrische Signale zu übertragen, werden die in der Umgebung und innerhalb der Zelle vorhandene Ionen (vor allem Na^+ und K^+) verwendet.

5 NERVENLEITUNG

5.2.1 Ionenkanäle

Die Zellmembran ist für Ionen nicht oder kaum durchlässig. Damit ein Austausch von Ionen durch die Membran dennoch stattfindet, verfügt die Zelle über (Ionen-)Kanäle, mit welchen aktive Ionen vom inneren der Zelle in die Umgebung oder umgekehrt gelangen können.



Im Falle des Axons handelt es sich bei den Kanälen um spannungsgesteuerte, ionenselektive Kanäle. Um die Ionenselektivität von z. B. Kaliumkanälen zu erreichen, reicht es nicht aus, nach Atomgrößen zu filtern, da z. B. schon das Natrium kleiner als Kalium ist. Für die Selektivität wird deshalb die Größe der Hydrathülle ausgenutzt.

5.2.2 Nernst-Potential

Das Vorhandensein von Konzentrationsgradienten zwischen zwei permeabel getrennten Lösungen (z. B. innerhalb und außerhalb einer Zelle) führt zur Ausbildung einer Potentiadifferenz $\Delta\Phi$. Das chemische Potential $\mu_{1/2}^{\text{el}}$ der einzelnen Lösungen ist in Abhängigkeit der jeweiligen Konzentrationen $c_{1/2}$ und angenommenen Potentiale $\Phi_{1/2}$:

$$\mu_1^{\text{el}} = \mu^0 + k_B T \ln(c_1) + z e \Phi_1 \quad (5.1)$$

$$\mu_2^{\text{el}} = \mu^0 + k_B T \ln(c_2) + z e \Phi_2. \quad (5.2)$$

Da die beiden Lösungen im chemischen Gleichgewicht sein sollen, gilt für die chemischen Potentiale der Lösungen:

$$\begin{aligned} \mu_1^{\text{el}} &= \mu_2^{\text{el}} \\ \mu_1^{\text{el}} = \mu^0 + k_B T \ln(c_1) + z e \Phi_1 &= \mu_2^{\text{el}} = \mu^0 + k_B T \ln(c_2) + z e \Phi_2 \\ z e (\Phi_2 - \Phi_1) &= -k_B T (\ln(c_2) - \ln(c_1)) \\ \boxed{\Delta\Phi = -\frac{k_B T}{z e} \ln\left(\frac{c_2}{c_1}\right)} \end{aligned} \quad (5.3)$$

5 NERVENLEITUNG

Für reale Nervenzellen ergeben sich mit den entsprechenden Konzentrationsdifferenzen die folgenden Nernst-Potentiale:

Ion	Konzentration (innen) $c_2 \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}} \right)$	Konzentration (außen) $c_1 \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}} \right)$	Nernst-Potential $\Delta\Phi \text{ (mV)}$
K^+	400	20	-75
Na^+	50	440	55
Cl^-	52	560	-60

5.2.3 Goldman-Gleichung

Betrachtet man das tatsächliche Ruhepotential der Nervenzelle, so kann man einen Wert von ca. -65 mV messen, also in der Nähe des Nernst-Potentials des Kaliums und Chlors. Das wiederum heißt, die Nervenzelle kann sich nicht in einem thermodynamischen Gleichgewicht befinden, da z. B. das Natrium standardmäßig nicht in seinem Ruhepotential vorliegt. Da sich jedoch im Ruhezustand die Konzentrationen auf ein festes Niveau einstellen, haben wir einen stationären Zustand, dafür muss es aber folglich permanent Ionenströme über die Membran geben, die sich in der Summe aufheben.

Um also zu verstehen, wie das Vorhandensein von verschiedenen Ionentypen mit Konzentrationsgradienten das Gesamtpotential an einer Membran verändern, soll zuerst ein Zusammenhang zwischen Diffusionskoeffizient und Reibungskoeffizient hergeleitet werden. Befindet sich ein Teilchen in einem Potential U , so wirkt auf es eine Kraft $\vec{F} = -\vec{\nabla}U$. Das Teilchen würde dann bedingt durch Reibungseffekte mit einer Geschwindigkeit $\vec{v} = \frac{\vec{F}}{\gamma}$, mit dem Reibungskoeffizienten γ , auf die angelegte Kraft reagieren. Nach einer gewissen Zeit werden sich die Teilchen im Bereich des Minimums von U ablagern, aber sich durch Diffusionseffekte dennoch weiterhin ausbreiten. Befindet sich das System im thermischen Gleichgewicht, so ist der Driftstrom \vec{j}_{Drift} , welcher die Teilchen zum Minimum von U bewegt, gleich dem Diffusionsstrom \vec{j}_{Diff} , welcher die abgelagerten Teilchen vom Minimum wegdiffundieren lässt. Bekanntermaßen lautet der Zusammenhang zwischen Diffusionsstrom und Konzentration c (mit der Diffusionskonstante D):

$$\vec{j}_{\text{Diff}} = -D\vec{\nabla}c. \quad (5.4)$$

Der Driftstrom \vec{j}_{Drift} ist dann in Abhängigkeit der Konzentration über

$$\vec{j}_{\text{Drift}} = c\vec{v} \quad (5.5)$$

gegeben und kann mittel obiger Definition zu

$$\vec{j}_{\text{Drift}} = c\frac{\vec{F}}{\gamma} = -c\frac{\vec{\nabla}U}{\gamma} \quad (5.6)$$

5 NERVENLEITUNG

umgeschrieben werden. Wie oben erwähnt gilt im thermischen Gleichgewicht für die einzelnen Ströme

$$\vec{j}_{\text{Diff}} + \vec{j}_{\text{Drift}} = 0 \quad (5.7)$$

oder mit den entsprechenden Größen eingesetzt

$$-c \frac{\vec{\nabla}U}{\gamma} = D \vec{\nabla}c. \quad (5.8)$$

Zur Vereinfachung soll diese Gleichung in einer Dimension betrachtet werden, also

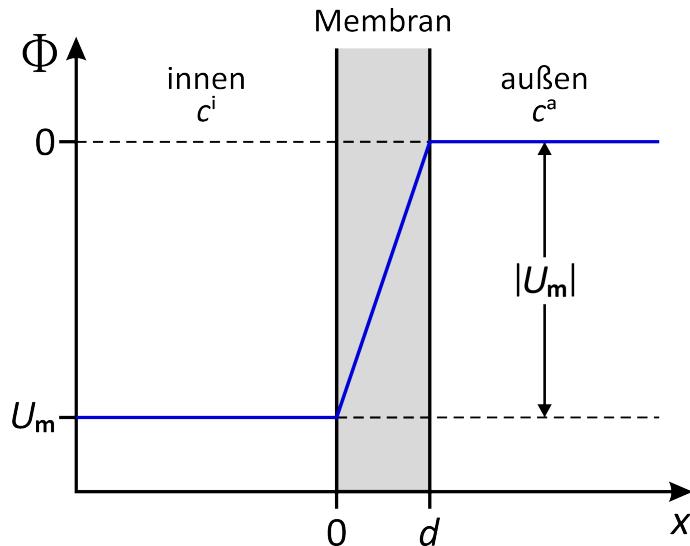
$$- \frac{c}{\gamma} \frac{dU}{dx} = D \frac{dc}{dx} \quad (5.9)$$

mit der nun offensichtlichen Lösung

$$c(x) = c_0 e^{-\frac{U(x)}{D\gamma}}. \quad (5.10)$$

Vergleicht man diesen Ausdruck mit der Boltzmann-Verteilung erhält man schließlich die **Einstein-Relation**

$$D\gamma = k_B T \quad (5.11)$$



Als Modell für die Teilchenströme j_ν soll jetzt angenommen werden, dass das Potential innerhalb der Zelle gerade dem Ruhepotential U_m entspricht und dieses Potential beim Durchgang durch die Membran mit der Dicke d auf den Wert 0 mV geht. Im inneren der Zelle liegt die Konzentration c_ν^i der Teilchensorte ν vor und in der Umgebung der Zelle die Konzentration c_ν^a . Da die Konzentrationen innen und außen unterschiedlich

5 NERVENLEITUNG

sind, kommt es zu einem Diffusionsstrom durch die Membran. Durch die Potentialdifferenz gibt es aber noch einen zusätzlichen Driftstrom durch die Membran, wodurch der Teilchenstrom schließlich die Form

$$j_\nu = -D_\nu \frac{\partial c_\nu}{\partial x} + c_\nu v_{\text{Drift}} \quad (5.12)$$

annimmt. Die (Stokesche) Reibungskraft soll der elektrischen Kraft auf das Ion entsprechen, also

$$\gamma v_{\text{Drift}} = z_\nu e E \quad (5.13)$$

mit der Elementarladung e , den getragenen Ladungseinheiten z_ν und dem elektrischen Feld E . Damit folgt als Ausdruck für den Teilchenstrom:

$$j_\nu = -D_\nu \frac{\partial c_\nu}{\partial x} + c_\nu \frac{z_\nu e E}{\gamma}. \quad (5.14)$$

Setzt man jetzt noch die Einstein-Relation ein und nimmt für das elektrische Feld vereinfachend einen Plattenkondensator mit Abstand d und Spannung U_m an, d. h. $E = \frac{U_m}{d}$, folgt:

$$j_\nu = -D_\nu \left(\frac{\partial c_\nu}{\partial x} - c_\nu \frac{z_\nu e U_m}{k_B T d} \right). \quad (5.15)$$

Diese Differentialgleichung kann nun bezüglich c_ν gelöst werden. Die homogene Lösung kann einfach als

$$c_{\nu \text{hom}}(x) = c_\nu^0 e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T d} x} \quad (5.16)$$

abgelesen werden. Für die inhomogene Lösung nimmt man für $c_{\nu \text{inhom}}(x)$ eine konstante Funktion an und somit

$$\begin{aligned} \frac{j_\nu}{D_\nu} &= c_\nu \frac{z_\nu e U_m}{k_B T d} \\ c_{\nu \text{inhom}}(x) &= \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m}. \end{aligned} \quad (5.17)$$

Die Gesamtlösung hat erhält man durch addieren der inhomogenen und homogenen Lösung:

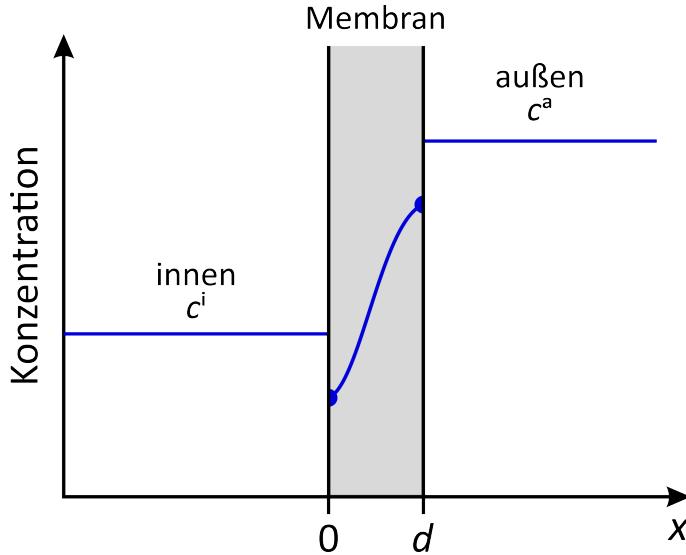
$$c_\nu(x) = c_\nu^0 e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T d} x} + \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m}. \quad (5.18)$$

Nun müssen noch die Randbedingungen an den beiden Seiten der Membran betrachtet werden. Dabei gilt zu beachten, dass die Konzentrationen innerhalb der Membran nicht einfach der Konzentration innerhalb der Zelle bzw. außerhalb der Zelle entspricht, sondern um einen Faktor g_ν verringert ist:

$$c_\nu(0) = g_\nu c_\nu^i \quad (5.19)$$

$$c_\nu(d) = g_\nu c_\nu^a. \quad (5.20)$$

5 NERVENLEITUNG



Am linken Rand bei $x = 0$ gilt somit für $c_\nu(x)$:

$$g_\nu c_\nu^i = c_\nu^0 + \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m} \quad (5.21)$$

und nach c_ν^0 umgeformt:

$$c_\nu^0 = g_\nu c_\nu^i - \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m}. \quad (5.22)$$

Setzt man diese Lösung in die allgemeine Gleichung ein, erhält man

$$c_\nu(x) = \left(g_\nu c_\nu^i - \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m} \right) e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T} x} + \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m}. \quad (5.23)$$

Nun dasselbe für den rechten Rand bei $x = d$:

$$\begin{aligned} g_\nu c_\nu^a &= \left(g_\nu c_\nu^i - \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m} \right) e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T} d} + \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m} \\ &= g_\nu c_\nu^i e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T} d} + \frac{j_\nu k_B T d}{D_\nu z_\nu e U_m} \left(1 - e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T} d} \right). \end{aligned} \quad (5.24)$$

Führt man noch die Permeabilität (Durchlässigkeit) $P_\nu = \frac{g_\nu D_\nu}{d}$ der Membran für eine Teilchensorte ν ein, kann diese Gleichung nach dem Teilchenstrom j_ν aufgelöst werden:

$$j_\nu = P_\nu \frac{z_\nu e U_m}{k_B T} \cdot \frac{c_\nu^a - c_\nu^i e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T} d}}{1 - e^{\frac{z_\nu e U_m}{k_B T} d}} \quad (5.25)$$

Wie anfangs bereits angemerkt, soll sich das Axon in einem stationären Zustand befinden, d. h. die Gesamtkonzentrationen der einzelnen Stoffe und damit auch die Gesamtladung des Axons sollen sich nicht mit der Zeit ändern. Das bedeutet aber, dass die

5 NERVENLEITUNG

einzelnen Ionenströme durch die Membran null ergeben müssen:

$$I = \sum_{\nu} z_{\nu} j_{\nu} \stackrel{!}{=} 0. \quad (5.26)$$

Mit den drei Ionen Na^+ , K^+ und Cl^- gilt also:

$$j_{\text{Na}} + j_{\text{K}} - j_{\text{Cl}} = 0 \quad (5.27)$$

oder entsprechend die Formeln für den Teilchenstrom eingesetzt:

$$\begin{aligned} P_{\text{Na}} \frac{eU_m}{k_B T} \frac{c_{\text{Na}}^{\text{a}} - c_{\text{Na}}^{\text{i}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{eU_m}{k_B T}}} + P_{\text{K}} \frac{eU_m}{k_B T} \frac{c_{\text{K}}^{\text{a}} - c_{\text{K}}^{\text{i}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{eU_m}{k_B T}}} + P_{\text{Cl}} \frac{eU_m}{k_B T} \frac{c_{\text{Cl}}^{\text{a}} - c_{\text{Cl}}^{\text{i}} e^{-\frac{eU_m}{k_B T}}}{1 - e^{-\frac{eU_m}{k_B T}}} &= 0 \\ P_{\text{Na}} \frac{eU_m}{k_B T} \frac{c_{\text{Na}}^{\text{a}} - c_{\text{Na}}^{\text{i}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{eU_m}{k_B T}}} + P_{\text{K}} \frac{eU_m}{k_B T} \frac{c_{\text{K}}^{\text{a}} - c_{\text{K}}^{\text{i}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{eU_m}{k_B T}}} + P_{\text{Cl}} \frac{eU_m}{k_B T} \frac{c_{\text{Cl}}^{\text{i}} - c_{\text{Cl}}^{\text{a}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{eU_m}{k_B T}}} &= 0 \\ P_{\text{Na}} \left(c_{\text{Na}}^{\text{a}} - c_{\text{Na}}^{\text{i}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}} \right) + P_{\text{K}} \left(c_{\text{K}}^{\text{a}} - c_{\text{K}}^{\text{i}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}} \right) + P_{\text{Cl}} \left(c_{\text{Cl}}^{\text{i}} - c_{\text{Cl}}^{\text{a}} e^{\frac{eU_m}{k_B T}} \right) &= 0 \end{aligned} \quad (5.28)$$

Klammert man jetzt noch die Exponentialfunktion aus:

$$P_{\text{Na}} c_{\text{Na}}^{\text{a}} + P_{\text{K}} c_{\text{K}}^{\text{a}} + P_{\text{Cl}} c_{\text{Cl}}^{\text{i}} = (P_{\text{Na}} c_{\text{Na}}^{\text{i}} + P_{\text{K}} c_{\text{K}}^{\text{i}} + P_{\text{Cl}} c_{\text{Cl}}^{\text{a}}) e^{\frac{eU_m}{k_B T}} \quad (5.29)$$

und logarithmiert beide Seiten, erhält man abschließend als Formel für das Ruhepotential U_m des Axons:

$$U_m = \frac{k_B T}{e} \ln \left(\frac{P_{\text{Na}} c_{\text{Na}}^{\text{a}} + P_{\text{K}} c_{\text{K}}^{\text{a}} + P_{\text{Cl}} c_{\text{Cl}}^{\text{i}}}{P_{\text{Na}} c_{\text{Na}}^{\text{i}} + P_{\text{K}} c_{\text{K}}^{\text{i}} + P_{\text{Cl}} c_{\text{Cl}}^{\text{a}}} \right) \quad (5.30)$$

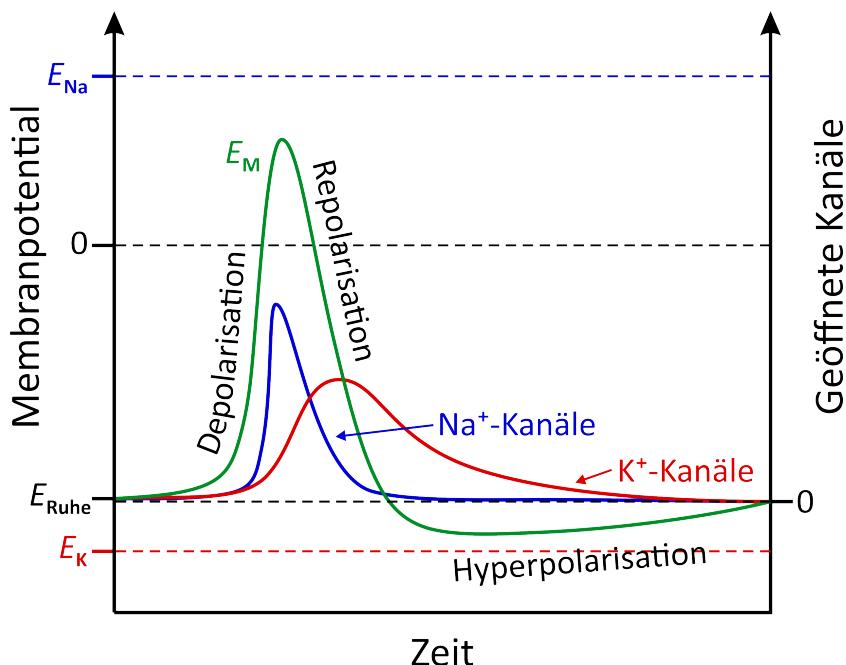
5.3 Elektrodynamik der Nervenleitung

5.3.1 Aktionspotential

Als Aktionspotential bezeichnet man die vorübergehende charakteristische Abweichung des Membranpotentials eines Axons vom Ruhepotential. Das Aktionspotential bildet sich durch kurzfristige Änderungen der Membranleitfähigkeit infolge der Öffnung spannungsgesteuerter Ionenkanäle in der Membran. Die zeitabhängig unterschiedliche Aktivierung der Ionenkanäle führt zu verschiedenen Ionenströmen mit entsprechend verschobenen Potentialdifferenzen. Daraus resultiert ein Aktionspotentialverlauf, bei dem auf die Phase der *Depolarisation* (alle Na^+ -Kanäle sind geöffnet) nach einem Peak die Phase der *Repolarisation* (die Na^+ -Kanäle sind wieder geschlossen und die K^+ -Kanäle öffnen sich) folgt, mit nachschwingender *Hyperpolarisation*. Dieser Vorgang läuft ab, wenn ein bestimmtes Schwellenpotential überschritten wird, und ist erst nach einer gewissen Refraktärzeit wieder auslösbar. Die Weiterleitung des elektrischen Signals durch

5 NERVENLEITUNG

die Nervenzelle beruht im speziellen auf dem öffnen und schließen der Na^+ -Kanäle: im Ruhezustand (polarisierte Membran) sind die Kanäle geschlossen, bei Depolarisierung der Membran öffnen sie sich und gehen kurz darauf in eine inaktiven, geschlossenen Zustand, bis sie bei Polarisation der Membran zurück in den Ausgangszustand gehen. Das sichtbare Aktionspotential folgt also im Wesentlichen der durch öffnen und schließen der Ionenkanäle verursachten Ionenströme.



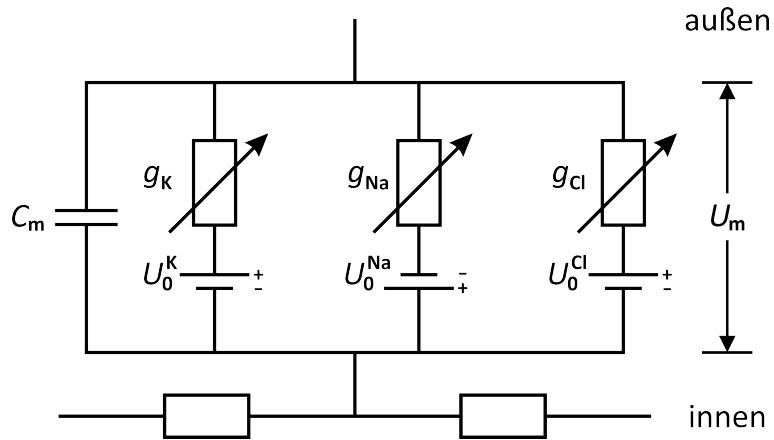
5.3.2 Hodgkin-Huxley-Gleichung

Um die experimentellen Beobachtungen am Aktionspotential zu erklären, wird zuerst ein elektrisches Ersatzschaltbild für die Membran eingeführt. Dafür werden die spannungsabhängigen Membranwiderstände für die jeweiligen Ionenströme I_ν innerhalb der Membran mit (variablen) Widerständen mit elektrischer Leitfähigkeit (Kehrwert des Widerstandes) G_ν modelliert. Die elektrische Membrankapazität C_m der Lipid-Doppelschicht wird durch einen Kondensator simuliert. Der Gesamtmembranstrom I ist die Summe der Kalium-, Natrium- und Chlorströme (im weiteren vernachlässigbar) I_K , I_{Na} und I_{Cl} durch die Membran. Der Gesamtstrom nimmt dann die Form

$$I = C_m \frac{dU_m}{dt} + G_K n^4 (U_m - U_0^K) + G_{\text{Na}} m^3 h (U_m - U_0^{\text{Na}}) \quad (5.31)$$

an. Die Parameter n, m, h mit $0 \leq h(U_m, t), m(U_m, t), n(U_m, t) \leq 1$ beschreiben die Wahrscheinlichkeiten, dass die einzelnen Ionenkanäle geöffnet sind. Die Exponenten der Parameter sind erst einmal phänomenologischer Natur, können aber physiologisch

5 NERVENLEITUNG



durch die Quartärstruktur der Ionenkanäle erklärt werden. Nun braucht es noch ein Modell für die jeweiligen Öffnungswahrscheinlichkeiten. Man nimmt dazu analog zu einer chemischen Reaktion ein System aus zwei Zuständen an:



Mit der Anzahl der offenen (A) bzw. geschlossenen (B) Kanäle $N_{A/B}$ folgt die Raten-gleichung:

$$\frac{dN_A}{dt} = \alpha N_B - \beta N_A. \quad (5.32)$$

Da die Gesamtanzahl N_{ges} der Kanäle gleich bleibt gilt $N_{\text{ges}} = N_A + N_B$, damit kann obige Gleichung nun umgeformt werden:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \left(\frac{N_A}{N_{\text{ges}}} \right) &= \alpha \frac{N_B}{N_{\text{ges}}} - \beta \frac{N_A}{N_{\text{ges}}} \\ \frac{d}{dt} \left(\frac{N_A}{N_{\text{ges}}} \right) &= \alpha \left(1 - \frac{N_A}{N_{\text{ges}}} \right) - \beta \frac{N_A}{N_{\text{ges}}} \\ \frac{dq}{dt} &= \alpha(1 - q) - \beta q, \end{aligned} \quad (5.33)$$

wobei in der letzten Zeile $q = \frac{N_A}{N_{\text{ges}}}$ gleichbedeutend mit den Wahrscheinlichkeiten n, m, h eingeführt wurde. Stellt man die Gleichung noch leicht um:

$$\frac{dq}{dt} = \alpha - (\alpha + \beta)q \quad (5.34)$$

können die homogene und inhomogene Lösung einfach abgelesen werden:

$$q_{\text{hom}}(t) = q_0 e^{-(\alpha + \beta)t} \quad (5.35)$$

$$q_{\text{inhom}}(t) = \frac{\alpha}{\alpha + \beta} \quad (5.36)$$

5 NERVENLEITUNG

womit mit die Gesamtlösung lautet:

$$q(t) = \frac{\alpha}{\alpha + \beta} + q_0 e^{-(\alpha+\beta)t}. \quad (5.37)$$

Es ist nicht schwer zu sehen, dass $\frac{\alpha}{\alpha+\beta}$ dem Wert von $q(t)$ für $t \rightarrow \infty$ entspricht und $\alpha + \beta$ dem Inversen einer Zeitkonstante gleich kommt. Somit kann die Lösung etwas kürzer als

$$q(t) = q_\infty + q_0 e^{-\frac{t}{\tau_q}} \quad (5.38)$$

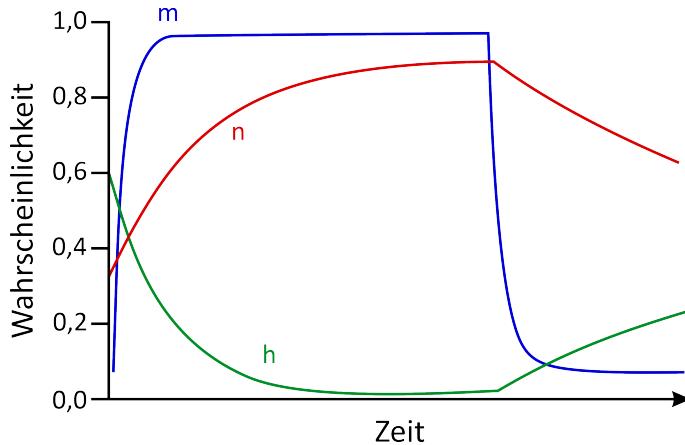
geschrieben werden. Mit der Randbedingung, dass alle Kanäle bei $t = 0$ geschlossen sind, gilt für die Lösung:

$$q(t) = q_\infty (1 - e^{-\frac{t}{\tau_q}}). \quad (5.39)$$

Mit der Bedingung, dass alle Kanäle bei $t = 0$ geöffnet sein sollen, gilt für die Lösung:

$$q(t) = q_\infty + (1 - q_\infty) e^{-\frac{t}{\tau_q}}. \quad (5.40)$$

Die Wahrscheinlichkeiten weisen nach diesem Modell also einen exponentiellen Verlauf auf.



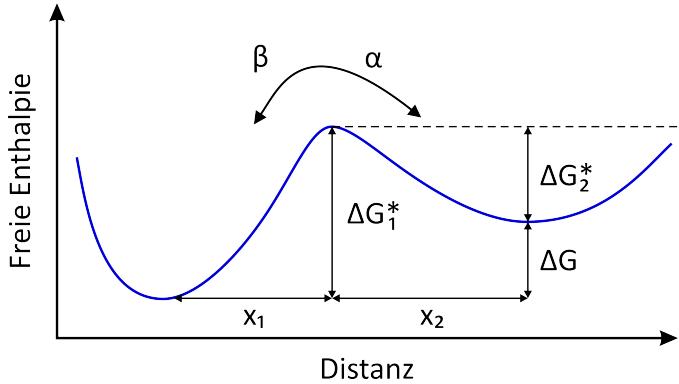
Die Wahrscheinlichkeiten n, m, h und damit auch die Übergangsraten α, β im Zwei-Zustands-Modell sind nicht unabhängig von der Membranspannung. Vereinfachend legt man nun eine Boltzmann-Verteilung mit spannungsabhängige Potentialbarrieren zugrunde, um die Spannungsabhängigkeit zu beschreiben. Für die Übergangsraten gilt damit

$$\alpha = \frac{1}{\tau} \exp\left(-\frac{\Delta G_1^*}{k_B T}\right) \quad (5.41)$$

$$\beta = \frac{1}{\tau} \exp\left(-\frac{\Delta G_2^*}{k_B T}\right) \quad (5.42)$$

mit nicht näher bestimmten Grundraten $\frac{1}{\tau}$. Stellt man sich die Ionenkanäle wie einen Kanal mit kippbarem Deckel vor, so hat der Ionenkanal mit einer Ladung q in elektrischen

5 NERVENLEITUNG



Feld der Membran $E_m = \frac{U_m}{\ell}$ (mit der Membrandicke ℓ) nach öffnen des Deckels um $x_{1/2}$ eine Energie

$$E_{el} = \frac{U_m q x_{1/2}}{\ell}, \quad (5.43)$$

womit die Boltzmann-verteilten Übergangsraten nach anlegen einer Spannung die neue Form

$$\alpha(U_m) = \frac{1}{\tau} \exp\left(-\frac{\Delta G_1^* - \frac{U_m q x_1}{\ell}}{k_B T}\right) \quad (5.44)$$

$$\beta(U_m) = \frac{1}{\tau} \exp\left(-\frac{\Delta G_2^* + \frac{U_m q x_2}{\ell}}{k_B T}\right) \quad (5.45)$$

annehmen. Zurück zur allgemeinen Lösung für die Wahrscheinlichkeiten n, m, h kann nun der Term q_∞ ausgerechnet werden:

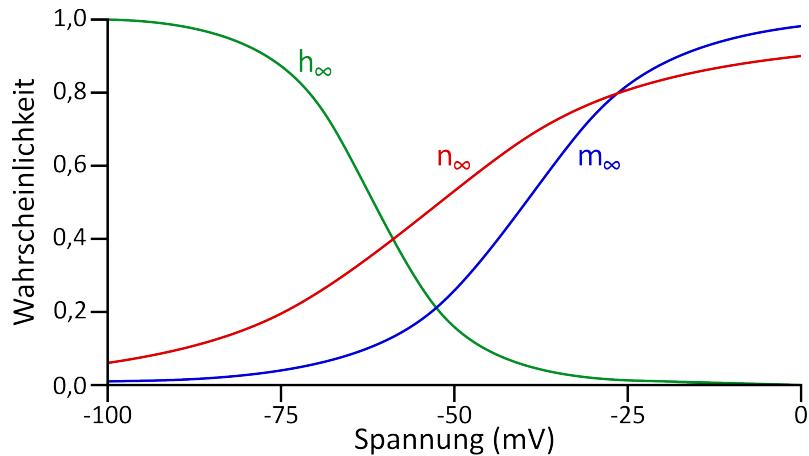
$$\begin{aligned} q_\infty(U_m) &= \frac{\alpha}{\alpha + \beta} = \frac{1}{1 + \frac{\beta}{\alpha}} \\ &= \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{\Delta G_1^* - \frac{U_m q x_1}{\ell} - \Delta G_2^* - \frac{U_m q x_2}{\ell}}{k_B T}\right)} \\ &= \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{(\Delta G_1^* - \Delta G_2^*) - \frac{U_m q}{\ell}(x_1 + x_2)}{k_B T}\right)} \\ \boxed{q_\infty(U_m) = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{\Delta G - \frac{U_m}{\ell} x_{ges}}{k_B T}\right)}}. \end{aligned} \quad (5.46)$$

Die Spannungsabhängigkeit des Terms q_∞ folgt also einer Fermifunktion.

Eine weitere interessante Größe ist Relaxationszeit der einzelnen Kanäle in Abhängigkeit der Spannung. Die Relaxationszeit der Kanäle hängt von der Zeitkonstante τ_q ab und kann analog zu oben umgeformt werden:

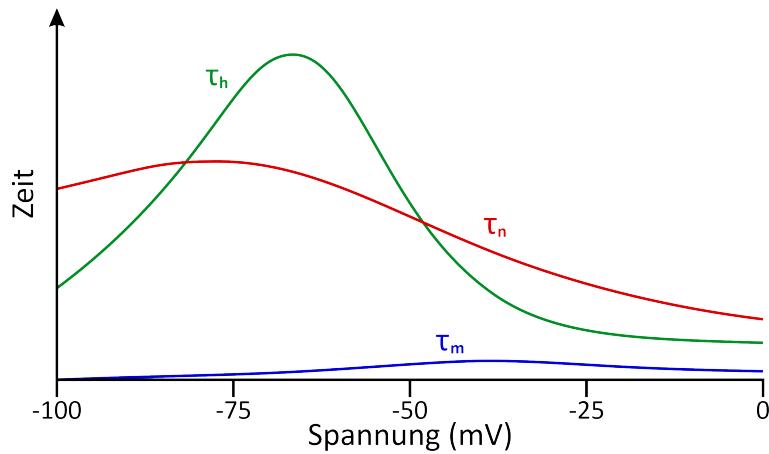
$$\tau_q(U_m) = \frac{1}{\alpha + \beta}$$

5 NERVENLEITUNG



$$\tau_q(U_m) = \frac{\tau}{\exp\left(-\frac{\Delta G_1^* - \frac{U_m q x_1}{\ell}}{k_B T}\right) + \exp\left(-\frac{\Delta G_2^* + \frac{U_m q x_2}{\ell}}{k_B T}\right)} \quad (5.47)$$

Die Kurve der Relaxationszeit hat Ähnlichkeiten mit einer Glockenkurve.



5.3.3 Vereinfachung der Hodgkin-Huxley-Gleichung

Bei der Hodgkin-Huxley-Gleichung handelt es sich zusammen mit den Zustandsgleichungen der einzelnen Ionenkanäle um ein System aus nicht-linearen, miteinander gekoppelten, inhomogenen Differentialgleichungen:

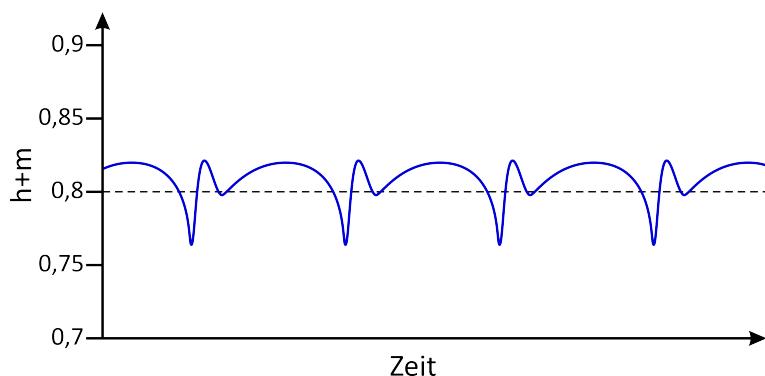
$$\begin{aligned} \frac{dU_m}{dt} &= \frac{1}{C_m} \left[I - G_K n^4 (U_m - U_0^K) - G_{Na} m^3 h (U_m - U_0^{Na}) \right] \\ \frac{dn}{dt} &= \alpha_n(U_m)(1-n) - \beta_n(U_m)n \end{aligned} \quad (5.48)$$

5 NERVENLEITUNG

$$\begin{aligned}\frac{dm}{dt} &= \alpha_m(U_m)(1 - m) - \beta_m(U_m)m \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(U_m)(1 - h) - \beta_h(U_m)h.\end{aligned}$$

Dieses System ist nur mithilfe von Computern lösbar, kann aber ausgehend von experimentellen und heuristischen Erkenntnissen auf eine einfachere Form gebracht werden. Die erste wichtige Beobachtung liegt darin, dass die Zeitkonstante τ_m immer kleiner als $\tau_{n/h}$ ist und sich somit die Wahrscheinlichkeit $m(t, U_m)$ viel schneller ändert als die anderen Wahrscheinlichkeiten n, h . Man nähert deshalb die Änderungen der Wahrscheinlichkeit m als unmittelbar mit der Spannung U_m :

$$m(t, U_m) = m_\infty(U_m). \quad (5.49)$$



Eine weitere Beobachtung ist, dass die Summe aus den Wahrscheinlichkeiten h und m unabhängig von der angelegten Spannung ungefähr den Wert 0.8 besitzt:

$$n(t, U_m) + h(t, U_m) \approx 0.8, \quad (5.50)$$

womit die Wahrscheinlichkeit b als

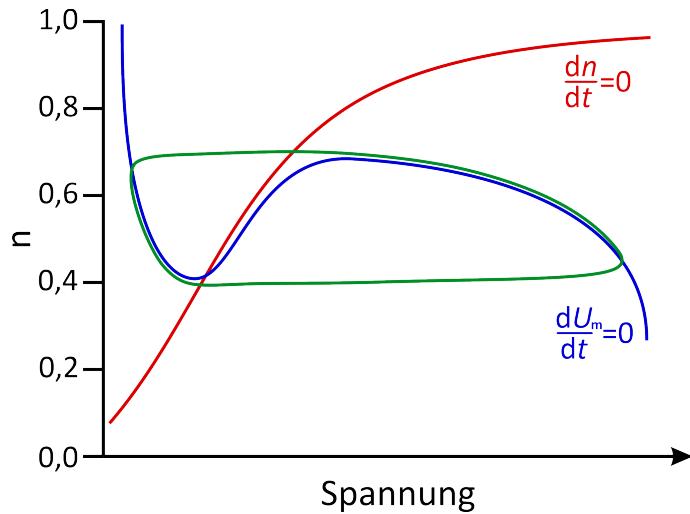
$$h(t, U_m) \approx 0.8 - \eta(t, U_m) \quad (5.51)$$

ausgedrückt werden kann. Mit diesen beiden Näherungen können jetzt die vier gekoppelten Differentialgleichungen auf zwei reduziert werden:

$$\frac{dU_m}{dt} = \frac{1}{C_m} \left[I - G_K n^4 (U_m - U_0^K) - G_Na m_\infty^3 (U_m) (0.8 - n) (U_m - U_0^{Na}) \right] \quad (5.52)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(U_m)(1 - n) - \beta_n(U_m)n \quad (5.53)$$

Mithilfe dieser vereinfachten Gleichungen ist auch die graphische Auswertung der Differentialgleichungen einfacher, wie z. B. das Auffinden stationärer Punkte oder der Nullklinen (Steigung null).



5.3.4 FitzHugh-Modell

Ein weiteres Modell, welches die Anregung eines Axons beschreibt, ist das **FitzHugh-(Nagumo-)Modell**. Empirisch kann es aus dem Phasenraumdiagramm des Hodgkin-Huxley-Modells hergeleitet werden, indem man die Nullkline von n mit einer Gerade und die Nullkline von U_m mit einem Polynom 3. Grades annähert. Nach dem FitzHugh-Modell gilt dann für die Zeitableitungen:

$$\frac{1}{c} \frac{du}{dt} = w + u - \frac{1}{3}u^3 + J \quad (5.54)$$

$$c \frac{dw}{dt} = a - bw - u \quad (5.55)$$

wobei a, b, c Parameter sind, v das Membranpotential beschreibt, w für den Kaliumstrom zuständig ist und J einen externen Strom darstellt. Bei den stationären Punkten

$$\frac{du}{dt} = 0 \quad \text{und} \quad \frac{dw}{dt} = 0 \quad (5.56)$$

wird aus den obigen Gleichungen

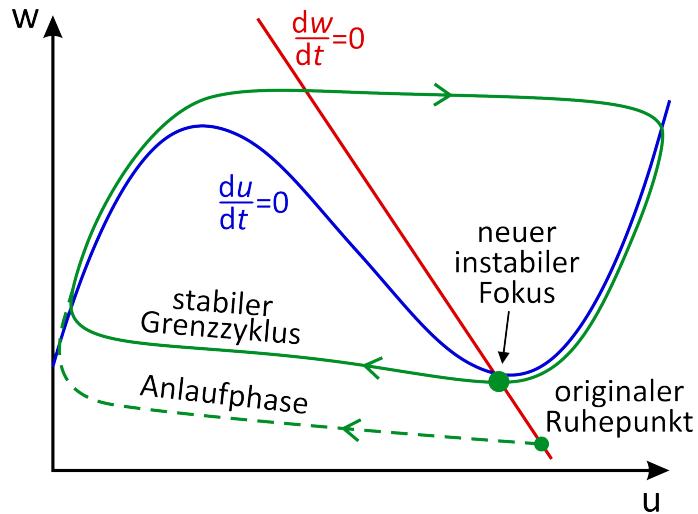
$$w(u) = -u + \frac{1}{3}u^3 - J \quad (5.57)$$

$$w(u) = \frac{a-u}{b}. \quad (5.58)$$

Diese Gleichungen beschreiben die Nulllinien im Phasenraum. Es ist möglich, dass FitzHugh-Modell noch etwas zu vereinfachen und auf die zeitliche Änderung von nur einer Variablen zu reduzieren. Dafür wird zuerst Gleichung (5.54) nach der Zeit abgeleitet:

$$\frac{d^2u}{dt^2} = c \frac{dw}{dt} + c \frac{du}{dt} - cu^2 \frac{du}{dt} + c \frac{dJ}{dt} \quad (5.59)$$

5 NERVENLEITUNG



und für die Ableitung von w Gleichung (5.55) eingesetzt:

$$\frac{d^2u}{dt^2} = a - bw - u + c \frac{du}{dt} - cu^2 \frac{du}{dt} + c \frac{dJ}{dt}. \quad (5.60)$$

Löst man Gl. (5.54) noch nach w auf und setzt in obige Gleichung ein, erhält man:

$$\frac{d^2u}{dt^2} = a - b \left(\frac{1}{c} \frac{du}{dt} - u + \frac{1}{3} u^3 - J \right) - u + c \frac{du}{dt} - cu^2 \frac{du}{dt} + c \frac{dJ}{dt}, \quad (5.61)$$

was für $a = b = 0$, $J(t) = 0$ zu einem **van-der-Pol-Oszillator** wird:

$$\frac{d^2u}{dt^2} = c(1 - u^2) \frac{du}{dt} - u$$

(5.62)

Um den van-der-Pol-Oszillator im Phasenraum zu untersuchen, muss zuerst eine zweite Größe neben u eingeführt werden; in diesem Fall die zeitliche Ableitung

$$y = \frac{du}{dt} \quad (5.63)$$

womit der van-der-Pol-Oszillator die neue Form

$$\frac{dy}{dt} = c(1 - u^2)y - u \quad (5.64)$$

nimmt. Teilt man jetzt beide Seiten der Gleichung durch y :

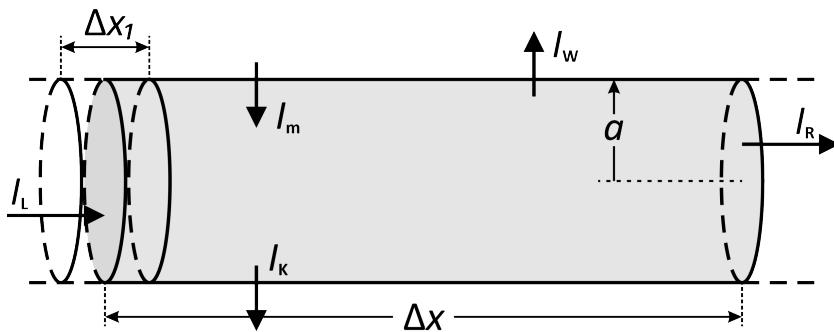
$$\frac{1}{y} \frac{dy}{dt} = c(1 - u^2) - \frac{u}{y} \quad (5.65)$$

und wendet die Kettenregel umgekehrt auf den Ausdruck auf der linken Seite an, erhält man:

$$\frac{dy}{du} = c(1 - u^2) - \frac{u}{y}. \quad (5.66)$$

5.4 Kabeltheorie

Bis jetzt wurde nur die zeitliche Änderung des elektrischen Signals an einem Punkt des Axons, das Aktionspotential, untersucht. Wie aber breitet sich das Signal räumlich entlang des Axons aus? Dazu betrachtet man ein Stück des Axons mit der (infinitesimal) kurzen Länge Δx und Radius a und berechnet die durch diese Strecke fließenden Ströme. (Außerhalb des Axons soll das Potential homogen und null sein)



Der erste Strom ist der kapazitive Strom I_K , hervorgerufen durch die spezifische Kapazität pro Flächeneinheit c_m , $[c_m] = \frac{F}{m^2}$ der Membran und dem Membranpotential U_m , und lautet:

$$I_K = 2\pi a \Delta x c_m \frac{\partial U_m}{\partial t}. \quad (5.67)$$

Dann existiert noch ein linker bzw. rechter Strom $I_{L/R}$ erzeugt durch den Spannungsgradienten $\Delta U_{L/R}$ im linken bzw. rechten Randstück Δx_1 und dem spezifischen Widerstand (gemessen in Faserrichtung) r_i , $[r_i] = \Omega m$ mit den Formeln:

$$I_L = -\frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\Delta U_L}{\Delta x_1} \quad (5.68)$$

$$I_R = \frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\Delta U_R}{\Delta x_1}. \quad (5.69)$$

Ähnlich dem kapazitiven Strom gibt es auch einen Leckstrom I_W durch die Membran, welcher durch den spezifischen Membranwiderstand r_m , $[r_m] = \Omega m^2$ und der Membranspannung entsteht. Der Leckstrom ist über

$$I_W = \frac{2\pi a \Delta x}{r_m} U_m \quad (5.70)$$

gegeben. Schlussendlich gibt es noch einen von außen angelegten Strom durch die Membran I_m mit der entsprechenden Stromdichte i_{ex} , $[i_{ex}] = \frac{A}{m^2}$. Der Strom berechnet sich über

$$I_m = -2\pi a \Delta x i_{ex}. \quad (5.71)$$

Offensichtlich müssen alle Ströme zusammenaddiert null ergeben, folglich:

$$I_L + I_R + I_m + I_K + I_W \stackrel{!}{=} 0 \quad (5.72)$$

5 NERVENLEITUNG

$$-\frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\Delta U_L}{\Delta x_1} + \frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\Delta U_R}{\Delta x_1} - 2\pi a \Delta x i_{ex} + 2\pi a \Delta x c_m \frac{\partial U_m}{\partial t} + \frac{2\pi a \Delta x}{r_m} U_m = 0 \quad (5.73)$$

lässt man Δx_1 gegen null laufen, könne die Brüche für $I_{L/R}$ durch Ortsableitungen ersetzt werden:

$$\begin{aligned} -\frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\partial U_L}{\partial x} + \frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\partial U_R}{\partial x} - 2\pi a \Delta x i_{ex} + 2\pi a \Delta x c_m \frac{\partial U_m}{\partial t} + \frac{2\pi a \Delta x}{r_m} U_m &= 0 \\ -\frac{a}{2r_i} \frac{\partial U_L}{\partial x} + \frac{a}{2r_i} \frac{\partial U_R}{\partial x} - \Delta x i_{ex} + \Delta x c_m \frac{\partial U_m}{\partial t} + \frac{\Delta x}{r_m} U_m &= 0 \end{aligned} \quad (5.74)$$

Nun kann nach der zeitlichen Ableitung der Membranspannung umgestellt werden:

$$c_m \frac{\partial U_m}{\partial t} = \frac{1}{\Delta x} \left(\frac{a}{2r_i} \frac{\partial U_L}{\partial x} - \frac{a}{2r_i} \frac{\partial U_R}{\partial x} \right) + i_{ex} - \frac{U_m}{r_m} \quad (5.75)$$

für $\Delta x \rightarrow 0$ ist der Ausdruck in der Klammer ein Differenzenquotient von zwei Ableitungen, also einfach die zweite Ableitung:

$$\boxed{c_m \frac{\partial U_m}{\partial t} = \frac{a}{2r_i} \frac{\partial^2 U_m}{\partial x^2} + i_{ex} - \frac{U_m}{r_m}} \quad (5.76)$$

Diese Differentialgleichung wird **Kabelgleichung** genannt. Durch Definition einer Membranlängenkonstante λ_m mit

$$\lambda_m = \sqrt{\frac{r_m a}{2r_i}} \quad (5.77)$$

und einer Membranzzeitkonstante

$$\tau_m = r_m \cdot c_m \quad (5.78)$$

kann die Kabelgleichung in die gängigere Form

$$\tau_m \frac{\partial U_m}{\partial t} = \lambda_m^2 \frac{\partial^2 U_m}{\partial x^2} + r_m i_{ex} - U_m \quad (5.79)$$

gebracht werden. Für den einfachen Fall einer stationären Lösung $\frac{\partial U_m}{\partial t} = 0$ wird die Gleichung zu

$$0 = \lambda_m^2 \frac{\partial^2 U_m}{\partial x^2} - U_m \quad (5.80)$$

mit der Lösung

$$U_m(x) = A e^{-\frac{x}{\lambda}} + B e^{\frac{x}{\lambda}}. \quad (5.81)$$

Damit die Lösung physikalisch sinnvoll ist, muss $U_m(x) \rightarrow 0$ für $x \rightarrow \pm\infty$ gelten und somit:

$$U_m(x) = A e^{-\frac{|x|}{\lambda}}. \quad (5.82)$$

Um eine allgemeine Lösung zu finden, hilft es die Gleichung auf die n -dimensionale Diffusionsgleichung

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \vec{\nabla}^2 c \quad (5.83)$$

5 NERVENLEITUNG

mit der bekannten Lösung

$$c(\vec{x}, t) = \frac{1}{(4\pi Dt)^{\frac{n}{2}}} e^{-\frac{\|\vec{x}\|^2}{4Dt}} \quad (5.84)$$

zurückzuführen. Nimmt man für die externe Stromdichte i_{ex} einen Dirac-Impuls an:

$$i_{\text{ex}} = \frac{I_{\text{ex}}}{2\pi a} \delta(x)\delta(t) \quad (5.85)$$

und führt die Substitution

$$w(x, t) = e^{\frac{t}{\tau_m}} U_m(x, t) \quad (5.86)$$

durch, sind die Kabelgleichung und die Diffusionsgleichung identisch. Somit gilt für die allgemeine Lösung:

$$U_m(x, t) = \frac{I_{\text{ex}} R_\lambda}{\sqrt{4\pi \lambda^2 \frac{t}{\tau_m}}} \exp\left(-\frac{\tau_m x^2}{4\lambda^2 t}\right) \exp\left(-\frac{t}{\tau_m}\right) \quad (5.87)$$

wobei die widerstandsartige Größe $R_\lambda = \frac{r_i \lambda}{\pi a^2}$ eingeführt wurde. Betrachtet man die zeitliche Änderung des Peaks der Lösung, so kann die Wandergeschwindigkeit des Peaks als die Ausbreitungsgeschwindigkeit des elektrischen Signals interpretiert werden. Leitet man obige Formel nach t ab und setzt die erhaltene Gleichung null, erhält man nach kürzen der unwichtigen Faktoren:

$$\frac{2t^2}{\tau_m} + t - \frac{\tau_m x^2}{2\lambda^2} \stackrel{!}{=} 0 \quad (5.88)$$

Die (positive) Lösung dieser quadratischen Gleichung in t lautet:

$$t = -\frac{\tau_m}{4} + \frac{\tau_m}{4} \sqrt{1 + \frac{4\tau_m^2 x^2}{\lambda^2}}, \quad (5.89)$$

was für $x \rightarrow \infty$ durch die Formel

$$t \approx \frac{\tau_m}{2\lambda} x \quad (5.90)$$

approximiert werden kann. Die Wandergeschwindigkeit des Peaks ist dann über den Quotienten aus Position x und Zeit t gegeben:

$$v \approx \frac{2\lambda}{\tau_m}. \quad (5.91)$$

Setzt man nun noch die Membranlängenkonstante und die Membranzeitkonstante in die Geschwindigkeit ein, erhält man:

$$v \approx \sqrt{\frac{2a}{r_i r_m c_m^2}}, \quad (5.92)$$

6 FLUORESZENZ

die Ausbreitungsgeschwindigkeit ist also direkt proportional zum Durchmesser des Axons und indirekt proportional zur Membrankapazität. Kombiniert man die Kabelgleichung mit der Hodgkin-Huxley-Gleichung kann das volle räumliche Ausbreitungsverhalten des Nervensignals beschrieben werden:

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 U_m}{\partial x^2} - \tau_m \frac{\partial U_m}{\partial t} = r_m [G_K n^4 (U_m - U_0^K) + G_{Na} m^3 h (U_m - U_0^{Na}) + i_{leck}]. \quad (5.93)$$

Diese nicht-lineare Differentialgleichung lässt sich nur numerisch lösen und besitzt Wellen als Lösungen.

6 Fluoreszenz

6.1 Farbstoffe

Für den Menschen ist das Lichtspektrum im Wellenlängenbereich zwischen 380 und 790 nm sichtbar. Trifft weißes Licht auf einen Körper, wird das Lichtspektrum teilweise reflektiert und teilweise absorbiert. Werden beispielsweise kurzwellige Anteile der Lichtfarbe (Violett bis Blau, 420–480 nm) absorbiert, so enthält die remittierte Strahlung vorwiegend langwellige Anteile (bis 780 nm) und der Farbeindruck ist Gelb bis Rot. Die Farbstoff-Eigenschaft einer chemischen Verbindung ergibt sich aus ihrer chemischen Struktur. Während Moleküle mit vielen lokalisierten Molekülorbitalen im UV-Bereich absorbieren, besitzen z. B. die primären Photonenakzeptoren des Photosyntheseapparats wie Chlorophyll, Carotin und Cyanin (bei den blaugrünen Algen) viele delokalisierte $-C=C-$ oder $-C=N-$ Doppelbindungen, weshalb die Absorptionsbanden bis ins nahe Infrarotbereichs reichen. Bei einem System aus alternierenden Doppel- und Einfachbindungen wie in Carotinen oder Chlorophyll sind die Elektronen quasi frei im Molekül beweglich; man spricht daher auch von molekularen Drähten. Bei solchen Systemen verringert sich mit steigender Länge der energetische Abstand zwischen Grundzustand und angeregtem Energiezustand des Moleküls. Das Absorptionsmaximum verschiebt sich in Richtung längerer Wellenlängen und in den sichtbaren Bereich des Spektrums.

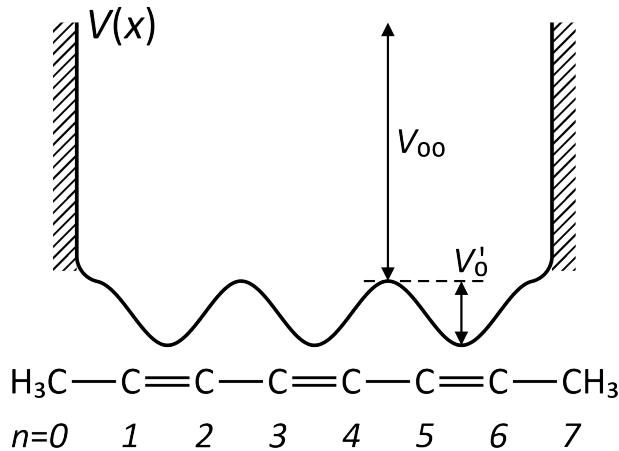
Um zu verstehen, wie die Farbwirkung einer chemischen Verbindung zustande kommt, betrachtet man als einfache Näherung einen Potentialtopf mit einer eingeprägten Kette aus abwechselnd Doppel- und Einfachbindungen als Grundpotential. Doppelbindung sind dabei energetisch niedriger als Einfachbindungen und erzeugen somit ein wellenförmiges Grundpotential. Die Energie E eines Elektrons in dem Potential lautet

$$E = \frac{\hbar^2 k^2}{2m} \quad (6.1)$$

mit der Wellenzahl k . Aus der Wellenfunktion des Elektrons folgt die Bedingung, dass die Wellenzahl mal der Länge L des Kastens einem ganzzahligen Vielfachen von π entsprechen muss, also gilt für k :

$$k = \frac{r \cdot \pi}{L}, \quad r \in \mathbb{N} \quad (6.2)$$

6 FLUORESZENZ



und somit für die Energie des Elektrons:

$$E_r = \frac{\hbar^2 \pi^2 r^2}{2mL^2} = \frac{\hbar^2 r^2}{8mL^2}. \quad (6.3)$$

Um das entsprechende Molekül anzuregen, muss das Elektron der r -ten Energieschale auf die $(r+1)$ -te Energieschale angehoben werden, d. h. es muss die Energie

$$\Delta E_r = E_{r+1} - E_r = \frac{\hbar^2(r+1)^2}{8mL^2} - \frac{\hbar^2 r^2}{8mL^2} = \frac{\hbar^2(2r+1)}{8mL^2} \quad (6.4)$$

aufgebracht werden. Bei einer mittleren Bindungslänge d (Einfachbindung und Doppelbindungen haben in der Regel nicht dieselbe Länge) ergibt sich für $2n+2$ C-Atomen eine Gesamtlänge aller Bindungen von

$$L = (2n+1)d. \quad (6.5)$$

Setzt man dies nun in obige Gleichung für die Anregungsenergie ein, folgt als benötigte Energie für ein Molekül aus abwechselnd Einfach- und Doppelbindungen:

$$\Delta E_r = \frac{\hbar^2(2r+1)}{8md^2(2n+1)}. \quad (6.6)$$

Nur der langwelligste Übergang muss betrachtet werden. Dieser tritt ein für $r = n$, womit sich die Energie zu

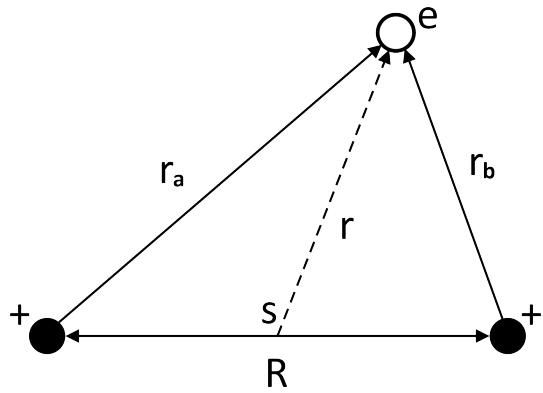
$$\Delta E_n = \frac{\hbar^2}{8md^2(2n+1)}$$

(6.7)

vereinfacht. Berücksichtigt man noch die alternierenden Bindungslängen zwischen Einfach- und Doppelbindung, findet man die empirische Formel

$$\Delta E_n = \frac{\hbar^2}{8md^2(2n+1)} - 0,83 \cdot V'_0 \left(1 - \frac{1}{2n}\right). \quad (6.8)$$

6 FLUORESZENZ



6.2 Molekülorbitale und LCAO-Näherung

Um die Molekülorbitale und die damit verbundenen Rechnungen verständlich zu machen, soll das einfachste Molekül, die Wasserstoff-Wasserstoff-Verbindung H_2^+ , untersucht werden. Die Energie dieses Moleküls beträgt in Abhängigkeit des Abstands der Kerne R und der jeweiligen Abstände $r_{a/b}$ des betrachteten Elektrons zu Kern A oder Kern B (mit $\frac{1}{4\pi\varepsilon_0} = 1$):

$$V(r_a, r_b, R) = -e^2 \left(\frac{1}{r_a} + \frac{1}{r_b} - \frac{1}{R} \right) \quad (6.9)$$

womit der Hamilton-Operator, welcher den Zustand des Elektrons beschreibt, die Form

$$\mathcal{H}^{\text{el}} = -\frac{\hbar^2}{2m} \vec{\nabla}_{\vec{r}}^2 - \frac{e^2}{r_a} - \frac{e^2}{r_b} + \frac{e^2}{R} \quad (6.10)$$

annimmt. Mit den Hamilton-Operator kann nun die (zeitunabhängige) Schrödinger-Gleichung der Wellenfunktion des Elektrons $\psi^{\text{el}}(\vec{r}, R)$ aufgestellt werden:

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m} \vec{\nabla}_{\vec{r}}^2 - \frac{e^2}{r_a} - \frac{e^2}{r_b} + \frac{e^2}{R} \right) \psi^{\text{el}}(\vec{r}, R) = E \psi^{\text{el}}(\vec{r}, R). \quad (6.11)$$

Insgesamt wurde hier die Born-Oppenheimer-Näherung – für die Kern- und Elektronenbewegungen werden unterschiedlichen Zeitskalen angenommen – angewendet, um die Elektronen-Wellenfunktion unabhängig von der Wellenfunktion der Kerne zu betrachten und den Kernabstand nur als Parameter zu berücksichtigen. Um die Schrödinger-Gleichung zu lösen, wird die **LCAO-Methode** (engl. Linear Combination of Atomic Orbitals) angewendet. Bei der LCAO-Methode konstruiert man ein Wellenfunktion ψ_{LCAO} über eine (anti)symmetrische Linearkombination aus zwei Atomorbitalen (symmetrisch + und antisymmetrisch -), womit man schließlich die Wellenfunktion

$$\psi_{\text{LCAO}} = c_1 \varphi_{1s}(\vec{r}_a) \pm c_2 \varphi_{1s}(\vec{r}_b) \quad (6.12)$$

erhält. Die Normierung der Wellenfunktion sieht wie folgt aus:

$$\int d\tau \psi_{\text{LCAO}}^* \cdot \psi_{\text{LCAO}} = c_1^2 + c_2^2 \pm 2c_1 c_2 \int d\tau \varphi_{1s}(\vec{r}_a) \varphi_{1s}(\vec{r}_b)$$

6 FLUORESZENZ

$$= c_1^2 + c_2^2 \pm 2c_1 c_2 S \stackrel{!}{=} 1, \quad (6.13)$$

wobei das Überlappintegral

$$S = \int d\tau \varphi_{1s}(\vec{r}_a) \varphi_{1s}(\vec{r}_b) \quad (6.14)$$

eingeführt wurde. Die beiden Wasserstoffatome sollen gleichwertig zueinander sein, also $c_1 = c_2$, woraus über obiger Gleichung als Bedingung für c_1 folgt:

$$2c_1^2 \pm 2c_1^2 S = 1 \implies c_1 = \frac{1}{\sqrt{2}} \frac{1}{\sqrt{1 \pm S}}. \quad (6.15)$$

Die Wellenfunktion des 1s-Orbitals lautet bekanntermaßen (mit dem Bohrschen Atomradius a_0):

$$\varphi_{1s}(r_a) = \frac{1}{\sqrt{\pi a_0^3}} e^{-\frac{r_a}{a_0}} \quad (6.16)$$

womit sich nun die Wellenfunktionen konstruieren lassen:

$$\psi_{\text{sym}} = \frac{1}{\sqrt{2}} \frac{1}{\sqrt{1+S}} (\varphi_{1s}(r_a) + \varphi_{1s}(r_b)) \quad (6.17)$$

$$\psi_{\text{anti}} = \frac{1}{\sqrt{2}} \frac{1}{\sqrt{1-S}} (\varphi_{1s}(r_a) - \varphi_{1s}(r_b)). \quad (6.18)$$

Nun kann man sich noch fragen, welche Energien diese Molekülorbitale haben und welche davon die energetisch stabilere ist. Dazu berechnet man den Erwartungswert des Hamilton-Operators

$$E = \langle \mathcal{H} \rangle = \int d\tau \psi^* \mathcal{H} \psi, \quad (6.19)$$

welcher gleichbedeutend mit der Energie ist. Mit dem Hamilton-Operator \mathcal{H}^{el} des Elektrons und der Notation

$$\langle \mathcal{H}_{ij} \rangle = \int d\tau \varphi_{1s}(\vec{r}_i) \mathcal{H}^{\text{el}} \varphi_{1s}(\vec{r}_j) \quad (6.20)$$

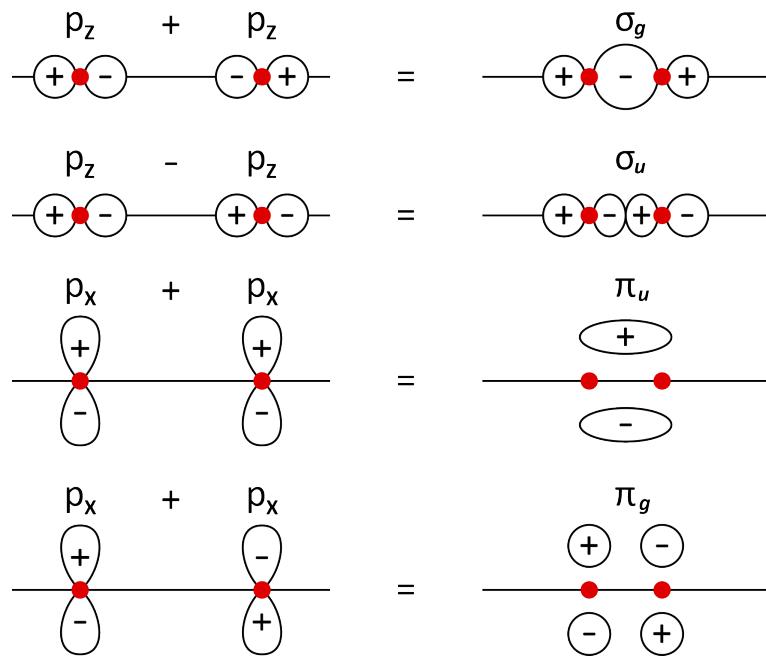
berechnen sich die Energien zu

$$E_{\text{sym}} = \frac{\langle \mathcal{H}_{aa} \rangle + \langle \mathcal{H}_{ab} \rangle}{1+S} \quad (6.21)$$

$$E_{\text{anti}} = \frac{\langle \mathcal{H}_{aa} \rangle - \langle \mathcal{H}_{ab} \rangle}{1-S}. \quad (6.22)$$

Für alle Abstände ist die Energie des antisymmetrischen Zustandes größer als die des symmetrischen, obendrein besitzt E_{sym} ein Minimum, während E_{anti} keines besitzt. Als Folge ist nur ein symmetrisches Molekülorbital bindend während antisymmetrischen Orbitale energetisch nicht stabil und somit auch nicht bindend sind.

6 FLUORESZENZ



Die hantelförmigen p-Orbitale können je nach Symmetrie zu σ - oder π -Molekülorbitalen kombiniert werden. Die σ -Orbitale sind rotationssymmetrisch um die Kernverbindungsachse, d. h. die z-Komponente des Drehimpulses ist 0. Dem gegenüber ist bei π -Orbitalen die z-Komponente des Drehimpulses 1.

Im nächsten Schritt soll die vollständige Wellenfunktion des H₂-Moleküls mithilfe der Wellenfunktionen des Ein-Elektron-Moleküls H₂⁺ untersucht werden. Mit den Wellenfunktionen

$$\psi_g(i) = \frac{1}{\sqrt{2}} \frac{1}{\sqrt{1+S}} (\varphi_a(i) + \varphi_b(i)) \quad (6.23)$$

$$\psi_u(i) = \frac{1}{\sqrt{2}} \frac{1}{\sqrt{1-S}} (\varphi_a(i) - \varphi_b(i)), \quad (6.24)$$

wobei $\varphi_{a/b}(i)$ die Wellenfunktion des i-ten Elektrons relativ zum Kern A/B bezeichnet, können die einzelnen Zustände des Molekül (mit Beachtung der Spinwellenfunktion χ) als

Zustand	Wellenfunktion
Grundzustand	$\psi_g(1)\psi_g(2)\chi_{\text{anti}}$
1. Angeregter Zustand (Triplet)	$[\psi_g(1)\psi_u(2) - \psi_u(1)\psi_g(2)]\chi_{\text{sym}}$
1. Angeregter Zustand (Singulett)	$[\psi_g(1)\psi_u(2) + \psi_u(1)\psi_g(2)]\chi_{\text{anti}}$

Bei angeregten Zuständen liegt der Triplet-Zustand immer niedriger. Dies ist einfach zu sehen, indem man die elektrostatische Energiebeiträge der jeweiligen Wellenfunktion

6 FLUORESZENZ

berechnet:

$$\begin{aligned}
 E &= \left\langle \psi_g(1)\psi_u(2) \pm \psi_u(1)\psi_g(2) \left| \frac{e^2}{r_{12}} \right| \psi_g(1)\psi_u(2) \pm \psi_u(1)\psi_g(2) \right\rangle \\
 &= 2 \underbrace{\left\langle \psi_g(1)\psi_u(2) \left| \frac{e^2}{r_{12}} \right| \psi_g(1)\psi_u(2) \right\rangle}_{\text{Coulombabstoßung}} \pm 2 \underbrace{\left\langle \psi_u(1)\psi_g(2) \left| \frac{e^2}{r_{12}} \right| \psi_u(1)\psi_g(2) \right\rangle}_{\text{Austauschwechselwirkung}} \quad (6.25)
 \end{aligned}$$

6.3 Elektronische Übergänge in Molekülen

Angeregte Zustände können über verschiedenen Wege wieder abregen. Welche elektronischen Übergänge möglich sind, kann über Fermis Goldene Regel bestimmt werden. Nach der Born-Oppenheimer-Näherung lautet die Wellenfunktion eines Moleküls

$$\psi_{ij} = \varphi_i(r, R) \cdot \rho_j(R) \cdot \chi_i, \quad (6.26)$$

mit der Elektronenwellenfunktion $\varphi(r, R)$, der Kernwellenfunktion $\rho(R)$ und der Spinwellenfunktion χ . Die Übergangsrate $\lambda_{i \rightarrow f}$ für Dipolübergänge berechnet sich nach der Goldenen Regel wie folgt:

$$\lambda_{i \rightarrow f} \propto \left| \left\langle \psi_i \left| \sum_j e \cdot \vec{r}_j \right| \psi_f \right\rangle \right|^2 = |M_{if}|^2 \quad (6.27)$$

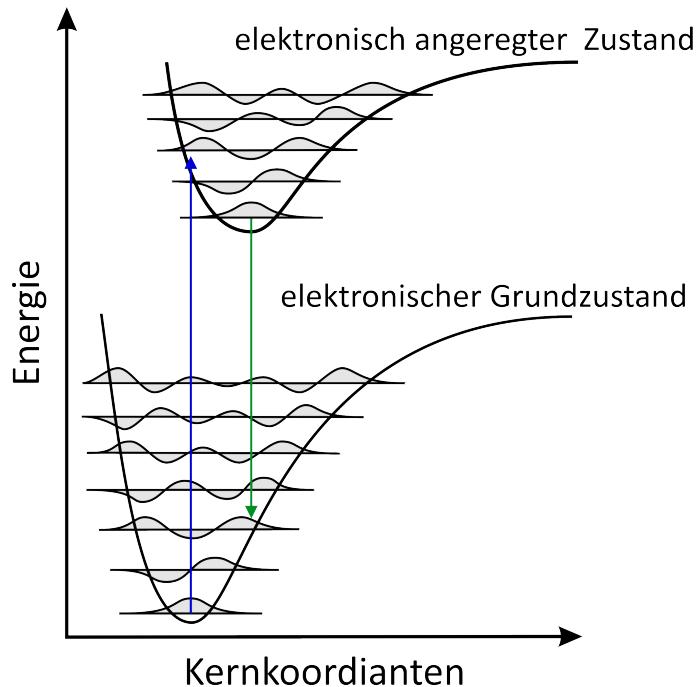
mit dem Dipolmatrix M_{if} , welche sich durch einsetzen der Born-Oppenheimer-Näherung umschreiben lässt:

$$\begin{aligned}
 M_{if} &= \left\langle \varphi_i(r, R) \cdot \rho_i(R) \cdot \chi_i \left| \sum_j e \cdot \vec{r}_j \right| \varphi_f(r, R) \cdot \rho_f(R) \cdot \chi_f \right\rangle \\
 &= \left\langle \varphi_i \left| \sum_j e \cdot \vec{r}_j \right| \varphi_f \right\rangle \cdot \langle \rho_i | \rho_f \rangle \cdot \langle \chi_i | \chi_f \rangle. \quad (6.28)
 \end{aligned}$$

Der Term $\langle \chi_i | \chi_f \rangle$ ist dafür verantwortlich, dass Strahlungsübergänge (ohne weitere Interaktionen wie Spin-Bahn-Kopplung) nicht zwischen Singulett- und Triplet-Zustand möglich sind.

Betrachtet man den Term $\langle \rho_i | \rho_f \rangle$, welcher die Kernwellenfunktion des angeregten Zustands und Grundzustands vergleicht, so gilt dort das **Franck-Condon-Prinzip**. Es besagt, ein Übergang ist umso wahrscheinlicher, je besser die Vibrations-Wellenfunktionen der beiden Zustände zueinander kompatibel sind (d. h. möglichst ähnlich an der ursprünglichen Kernkoordinate sind). Das Franck-Condon-Prinzip ist auch der Grund für die **Stokes-Verschiebung**, d. h. für die Verschiebung der Wellenlänge des Lichts zwischen Absorption und Emission.

6 FLUORESZENZ



6.4 Übersicht: Fluoreszenz

Insgesamt gibt es viele verschiedene Übergangsprozesse mit jeweiligen damit verbundenen Übergangsraten k . Im folgenden sei S_0 der Singulett-Grundzustand, S_i der i -te Singulett-Zustand, T_i der i -te Triplett-Zustand und $h\nu$ die Energie eines Lichtquants.

Name	Prozess	Rate
Anregung	$h\nu + {}^1S_0 \rightarrow {}^1S_1$	I
Fluoreszenz	$S_1 \rightarrow S_0 + h\nu_F$	k_F
Phosphoreszenz	$T_1 \rightarrow S_0 + h\nu_P$	k_P
Interne Konversionen	$S_i \rightarrow S_{i-1} + k_B T$	k_{ic}
Singulett-Triplett-Konv.	$S_i \rightarrow T_{i-1} + k_B T$	k_{ST}
Intersystem Crossing	$T_i \rightarrow S_i + k_B T$	k_{TS}

Die Spin-Bahn-Kopplung

$$\mathcal{H}_{SB} \propto \vec{L} \cdot \vec{S} \quad (6.29)$$

führt bei schweren Atomen zu einer Aufhebung des Spinverbots (keine Übergänge zwischen Singulett und Triplett), womit Singulett-Triplett-Übergängen dort beobachtet werden können. Neben den Prozessen, welche innerhalb eines Moleküls (also intramolekular) stattfindend, existiere auch Prozesse zwischen zwei oder mehr unterschiedlichen Molekülen. Im Folgenden ist $S_i^{D/A}$ der Singulett-Zustand eines Donors/Akzeptors und Q ein Quencher, ein Molekül, welches elektronische Abregungen aufnehmen kann.

6 FLUORESZENZ

Name	Prozess	Rate
Löschprozesse	$S_1 + Q \rightarrow S_0 + Q$	k_Q
Energietransfer	$S_1^D + S_0^A \rightarrow S_0^D + S_1^A$	k_{et}
Elektronentransfer	$S_1^D + S_0^A \rightarrow S_0^{D+} + S_0^{A-}$	k_{ET}

Mit den einzelnen Raten ergibt sich die Gesamtlebensdauer τ eines angeregten Zustandes zu

$$\frac{1}{\tau} = \sum_i k_i. \quad (6.30)$$

Die allgemeine Quantenausbeute Φ_x ist definiert über

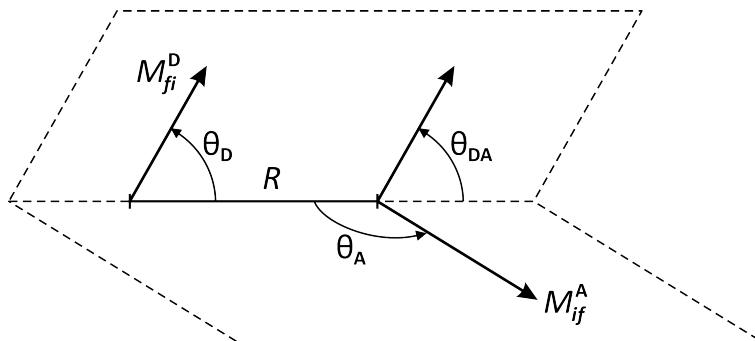
$$\Phi_x = \frac{k_x}{\sum_i k_i}, \quad (6.31)$$

welche mit dem Ausdruck der Gesamtlebensdauer zu

$$\Phi_x = k_x \tau \quad (6.32)$$

vereinfacht werden kann.

6.5 Förstertransfer



Der Förstertransfer bezeichnet die Übertragung von Energie eines angeregten Stoffes, dem Donor, auf einen zweiten Stoff, dem Akzeptor, ohne die Emission und Absorption eines Photons. Der Förstertransfer ist somit strahlungsfrei. Konkret wird die Energie des Donors über die Dipol-Dipol-Wechselwirkungen auf den Akzeptor übertragen; Donor und Akzeptor wirken damit wie Dipol-Antennen. Die Gesamtstrahlungsleistung S des Donors ist aus der Elektrodynamik bekannt und lautet

$$S = \frac{\omega^4 n}{3c^3} \|\vec{\mu}_D\|^2 \quad (6.33)$$

6 FLUORESZENZ

mit der Kreisfrequenz ω , dem Brechungsindex n des Ausbreitungsmediums und dem Dipolmoment des Donors $\vec{\mu}_D$. Weiter gilt für das elektrische Dipolfeld des Donors am Ort des Akzeptors:

$$\vec{E} = \frac{3(\vec{\mu}_D \cdot \vec{R})\vec{R} - \vec{\mu}_D\|\vec{R}\|^2}{n^2\|\vec{R}\|^5}. \quad (6.34)$$

Mithilfe der im Diagramm definierten Winkel kann der Betrag des E -Feldes umgeschrieben werden:

$$\|\vec{E}\| = \frac{\|\vec{\mu}_D\|\kappa}{n^2\|\vec{R}\|^3} \quad (6.35)$$

mit dem Orientierungsfaktor

$$\kappa^2 = (\cos(\theta_{DA}) - 3\cos(\theta_A)\cos(\theta_D))^2. \quad (6.36)$$

Der Akzeptor absorbiert nun die Leistung

$$W_A \propto \varepsilon_A(\omega) \frac{nc}{8\pi} \|\vec{E}\|^2, \quad (6.37)$$

mit dem frequenzabhängigen Anregungsspektrum $\varepsilon_A(\omega)$, womit der Anteil w_A der absorbierten Leistung des Akzeptors relativ zur Strahlungsleistung des Donors berechnet werden kann:

$$\begin{aligned} w_A &= \frac{W_A}{W_A + S} = \frac{1}{1 + \frac{S}{W_A}} \\ &= \left(1 + \frac{\frac{\omega^4 n}{3c^3} \|\vec{\mu}_D\|^2}{\text{konst.} \cdot \varepsilon_A(\omega) \frac{c\|\vec{\mu}_D\|^2\kappa^2}{8\pi n^3\|\vec{R}\|^6}} \right)^{-1} \\ &= \left(1 + \frac{\|\vec{R}\|^6}{\text{konst.} \cdot \frac{3\varepsilon_A(\omega)c^4\kappa^2}{8\pi\omega^4n^4}} \right)^{-1} \\ &= \frac{1}{1 + \frac{\|\vec{R}\|^6}{R_F^6}}, \end{aligned} \quad (6.38)$$

wobei der Förster-Radius $R_F^6 = \text{konst.} \cdot \frac{3\varepsilon_A(\omega)c^4\kappa^2}{8\pi\omega^4n^4}$ eingeführt wurde. Der Förster-Radius entspricht dabei dem Radius, bei welchem $w_A = \frac{1}{2}$ gilt. Die Empfindlichkeit der Übertragungsrate ermöglicht die präzise Vermessung von Abständen zwischen zwei Farbstoffen und ist somit für den experimentellen Einsatz von großer Bedeutung. In der Realität muss beachtet werden, dass nur die strahlenden Abregungen zum Energietransfer beitragen, also der Förster-Radius um die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_F verringert wird:

$$R_F^6 = \text{konst.} \cdot \frac{3\varepsilon_A(\omega)c^4\kappa^2}{8\pi\omega^4n^4} \cdot \Phi_F. \quad (6.39)$$

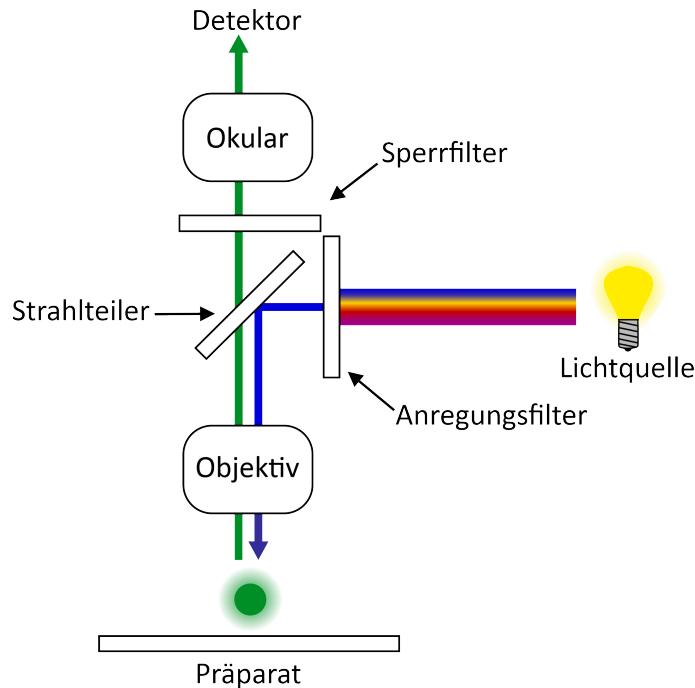
Auch handelt es sich bei dem Anregungsspektrum $\varepsilon_A(\omega)$ nicht um eine harte Kante, d. h. anstelle des Faktors $\frac{\varepsilon_A(\omega)}{\omega^4}$ muss das Überlappintegral

$$\int d\omega \frac{\varepsilon_A(\omega)}{\omega^4} f_D(\omega), \quad (6.40)$$

6 FLUORESZENZ

mit der normierten Donor-Fluoreszenz $f_D(\omega)$, ausgerechnet werden.

6.6 Fluoreszenzmikroskopie



Fluoreszenzmikroskopie ist eine spezielle Form der Mikroskopie, bei welcher die Fluoreszenz von mit Licht bestimmter Wellenlängen angeregter Stoffe ausgenutzt wird. Bei der Fluoreszenzmikroskopie wird das erzeugte, vergrößerte Bild des untersuchten Objekts nur durch das emittierte Licht erzeugt. Da nicht das ganze mikroskopische Präparat gleichmäßig fluoresziert, sondern wenn nur einige Strukturen leuchten, eignen sich Fluoreszenzmikroskope zur genauen Beobachtung auch sonst unscheinbarer Strukturen.

Teil II

Theorieteil

7 Quantenmechanik von Molekülen

7.1 Theorie molekularer Wechselwirkungen

Strukturbildungsprozesse und Assoziation (d. h. Zusammenlagerung/Lösen) von Biomolekülen sind die grundlegenden Prozesse innerhalb biologischer Strukturen. Die treibenden Kräfte dieser Prozesse sind intra- und intermolekulare Kräfte aber auch Wechselwirkungen mit der Umgebung, z. B. dem Lösungsmittel (Solvans) oder Ionen. Grundsätzlich erlauben die Methoden der Quantenmechanik eine präzise und umfassende Beschreibung der intra- und intermolekularen Wechselwirkungen (bei beliebigem Aufwand). Für Moleküle bilden dann die Koordinaten der Elektronen und des Atomkerns die prinzipiellen Variablen, aus welchen eine Wellenfunktion für die Elektronen eines Moleküls gefunden werden kann. Aus der Form der Wellenfunktion können die Zahl und die Geometrie von chemischen Bindungen und die Form des Moleküls bestimmt werden; die Wellenfunktion enthält also alle nötigen Informationen, um die physikalischen Eigenschaften auszurechnen.

Das einfachste System aus Kern und Elektron, der Wasserstoff, wird durch die stationäre (zeitunabhängige) Schrödingergleichung

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m_e} \vec{\nabla}_e^2 - \frac{\hbar^2}{2m_p} \vec{\nabla}_p^2 - \frac{e^2}{\|\vec{r}_e - \vec{R}\|} \right) \psi(\vec{r}_e, \vec{R}) = E\psi(\vec{r}_e, \vec{R}) \quad (7.1)$$

beschrieben. Hierbei bezeichnet \vec{R} die Kern- und \vec{r}_e die Elektronenkoordinate. Nach der bekannten Born-Oppenheimer-Näherung können die Kern- und Elektronenbewegung voneinander getrennt betrachtet werden, wodurch sich aus obiger Gleichung (mit dem Kern auf dem Koordinatenursprung) die Wellenfunktion des Elektrons als

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m_e} \vec{\nabla}_e^2 - \frac{e^2}{\|\vec{r}\|} \right) \psi_e(\vec{r}) = E\psi_e(\vec{r}) \quad (7.2)$$

ergibt. Betrachtet man den Hamilton-Operator statt in kartesischen in Kugelkoordinaten:

$$\mathcal{H}_W = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \left(\frac{\partial^2}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial}{\partial r} + \frac{1}{r^2 \sin(\theta)} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin(\theta) \frac{\partial}{\partial \theta} \right) + \frac{1}{r^2 \sin^2(\theta)} \frac{\partial^2}{\partial \varphi^2} \right) - \frac{e^2}{r} \quad (7.3)$$

kann die Lösung der Schrödingergleichung als ein Produkt aus Radial- und Winkelanteil dargestellt werden:

$$\psi_{nlm}(r, \theta, \varphi) = R_{nl}(r)Y_{lm}(\theta, \varphi). \quad (7.4)$$

7 QUANTENMECHANIK VON MOLEKÜLEN

Der Radialanteil dieser Lösung ist über die Formel

$$R_{n\ell}(r) = \sqrt{\left(\frac{2}{na_0}\right)^3 \frac{(n-\ell-1)!}{2n(n+\ell)!}} e^{-\frac{\rho}{2}} \rho^\ell L_{n-\ell-1}^{2\ell+1}(\rho), \quad (7.5)$$

mit $\rho = \frac{2r}{na_0}$ und den Laguerre-Polynomen $L_{n-\ell-1}^{2\ell+1}(\rho)$, gegeben und der Winkelanteil kann durch Kugelflächenfunktionen ausgedrückt werden. Besitzt der Kern mehrere Elektronen, so lautet der entsprechende Hamilton-Operator:

$$\boxed{\mathcal{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_{i=1}^n \vec{\nabla}_i^2 - \sum_{j=1}^n \frac{Ze^2}{\|\vec{r}_j\|} - \sum_{i < j} \frac{e^2}{\|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|}} \quad (7.6)$$

mit der Anzahl der Elektronen n und der Kernladungszahl Z . Der erste Term des Hamilton-Operators beschreibt die kinetische Energie der Elektronen, der zweite Term die Anziehung zum Kern und der dritte Term die Wechselwirkung der Elektronen untereinander. Ohne die Elektronen-Elektronen-Wechselwirkung besäße die zugehörige Schrödinger-Gleichung eine Wasserstoff-ähnliche Wellenfunktion als Lösung, mit dem Term kann die Gleichung nicht mehr analytisch gelöst werden, es müssen also Näherungsverfahren angewendet werden.

7.2 Hartree-Methode

Bei der Hartree-Methode wird die Elektronen-Elektronen-Wechselwirkung durch ein – relativ zu einem herausgegriffenen Elektron betrachtetes – mittleres, effektives Feld der anderen Elektronen ersetzt. Jedes Elektron fühlt damit nur die mittlere Wechselwirkung mit allen anderen Elektronen. Mit dieser Näherung zerfällt der Hamilton-Operator zu einer Summe aus Einelektronen-Operatoren, womit die Wellenfunktion als ein Produkt von Wellenfunktionen angesetzt werden kann:

$$\boxed{\psi_0 = s_1(r_1, \theta_1, \varphi_1) \cdot s_2(r_2, \theta_2, \varphi_2) \cdots s_n(r_n, \theta_n, \varphi_n)} \quad (7.7)$$

Für zwei Elektronen lautet das von Elektron 1 gespürte Potential

$$V_{12} = e \int d\vec{r}_2 \frac{\rho_2}{\|\vec{r}_1 - \vec{r}_2\|} \quad (7.8)$$

mit der räumlichen Ladungsverteilung ρ_2 des Orbitals von Elektron 2. Allgemein lautet das effektive Potential von insgesamt $n-1$ Elektronen auf das Elektron 1:

$$V_{1,\text{eff}}(r_1, \theta_1, \varphi_1) = -\frac{Ze^2}{\|\vec{r}_1\|} + e \sum_{j=2}^n \int d\vec{r}_j \frac{\rho_j}{\|\vec{r}_1 - \vec{r}_j\|}. \quad (7.9)$$

Über die Zentralfeldnäherung, d. h. Mittelung über alle Winkelanteile, kann dieser Ausdruck noch weiter vereinfacht werden und erhält dann die Form eines effektiven Coulomb-Potentials:

$$V_{1,\text{eff}}(r_1) = \frac{\int d\varphi_1 \int d\theta_1 \sin(\theta_1) V_{1,\text{eff}}(r_1, \theta_1, \varphi_1)}{\int d\varphi_1 \int d\theta_1 \sin(\theta_1)}. \quad (7.10)$$

7 QUANTENMECHANIK VON MOLEKÜLEN

Mit dem effektiven Potential der $n - 1$ Elektronen lautet die Schrödinger-Gleichung von Elektron 1:

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m_1} \vec{\nabla}_1^2 + V_{1,\text{eff}}(r_1) \right) t_1(1) = \varepsilon_1 t_1(1), \quad (7.11)$$

mit $t_1(1) := t_1(r_1)$, welche als Lösung die Wellenfunktion für Elektron 1 im mittleren Feld aller anderen Elektronen und des Atomkerns besitzt. Mit der Lösung kann dann eine neue Ladungsverteilung bestimmt werden, um damit das mittlere effektive Feld des zweiten Elektrons auszurechnen:

$$\underbrace{-e|t_1(1)|^2}_{=\rho_1^{\text{neu}}} + \rho_3 + \rho_4 + \cdots + \rho_n. \quad (7.12)$$

Mit dieser neuen Ladungsverteilung können die Schritte von zuvor wiederholt werden, um eine noch bessere Ladungsverteilung für Elektron 2 zu finden. Somit kann iterativ die Genauigkeit stetig verbessert werden, bis sich die Elektronenverteilung nicht mehr ändert, man also eine selbstkonsistente Lösung erhalten hat. Das Verfahren wird dann auch als **Hartree-SCF-Methode** (SFC: engl. Self-Consistent Field) bezeichnet. Ein Nachteil der Hartree-Methode liegt darin, dass der Spin der Elektronen nicht berücksichtigt wird.

7.3 Antisymmetrische Wellenfunktion und Slater-Determinanten

Elektronen gehören der Klasse der Fermionen an, d. h. sie bilden antisymmetrische Wellenfunktionen. Konkret heißt das für eine Mehrelektronen-Wellenfunktion $\psi(1, 2, \dots, n)$ mit n Elektronen, dass sich bei Vertauschung von Elektronen das Vorzeichen der Wellenfunktion ändert:

$$\psi(1, 2, \dots, j, \dots, k, \dots, n) = -\psi(1, 2, \dots, k, \dots, j, \dots, n). \quad (7.13)$$

Soll die Mehrelektronen-Wellenfunktion weiterhin als Produkt von Einelektron-Wellenfunktionen geschrieben werden, muss ein Antisymmetrisierungsoperator A_n eingeführt werden:

$$\psi(1, 2, \dots, n) = A_n \phi_1(1) \phi_2(2) \cdots \phi_n(n). \quad (7.14)$$

Der Antisymmetrisierungsoperator bildet eine Linearkombinationen der Produktwellenfunktionen, um den Vorzeichenwechsel zu garantieren. Ein eleganter Weg, die Anwendung des Operators auf die Produktwellenfunktionen darzustellen, ist die **Slater-Determinante**:

$$A_n \phi_1(1) \phi_2(2) \cdots \phi_n(n) = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} \phi_1(1) & \phi_1(2) & \cdots & \phi_1(n) \\ \phi_2(1) & \phi_2(2) & \cdots & \phi_2(n) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_n(1) & \phi_n(2) & \cdots & \phi_n(n) \end{vmatrix} =: |\phi_1 \phi_2 \cdots \phi_n| \quad (7.15)$$

7 QUANTENMECHANIK VON MOLEKÜLEN

Die Spalten der Slater-Determinante werden durch die einzelnen Orbitale und die Zeilen durch die Position der Elektronen gebildet. Die einzelnen Wellenfunktionen ϕ_i nennt man auch Orbitale (Spinorbitale), wobei jedes Orbital aus einem Ortsanteil (beschreibt die räumliche Verteilung) und Spinanteil besteht. Aus den Rechenregeln von Determinanten folgt auch, dass bei zwei gleichen Spinorbitale die Slater-Determinante null ist (vgl. Pauli-Prinzip). Allgemein lässt sich der Energieerwartungswert E einer gegebenen Wellenfunktion ψ über

$$E = \frac{\int d\tau \psi^* \mathcal{H} \psi}{\int d\tau \psi^* \psi} = \frac{\langle \psi | \mathcal{H} | \psi \rangle}{\langle \psi | \psi \rangle} \quad (7.16)$$

berechnen, was sich im Falle normierter Wellenfunktion zu

$$E = \langle \psi | \mathcal{H} | \psi \rangle \quad (7.17)$$

vereinfacht. Der Energieerwartungswert von Slater-Determinanten ergibt sich einfach durch einsetzen dieser in obige Gleichung:

$$E = \langle \psi | \mathcal{H} | \psi \rangle = \langle |\phi_1 \phi_2 \cdots \phi_n| | \mathcal{H} | |\phi_1 \phi_2 \cdots \phi_n| \rangle. \quad (7.18)$$

7.4 Hartree-Fock-Methode

Erweitert man die Hartree-Methode um die fermionischen Eigenschaften der Elektronen und dem Spin, erhält man die **Hartree-Fock-Methode**. Die Hartree-Fock-Methode ist die Basis für viele numerische Methoden zur Berechnung der quantenmechanischen Eigenschaften von Molekülen einschließlich großer Biomoleküle. Der betrachtete Hamilton-Operator des Moleküls $\mathcal{H}_{\text{Molekül}}$ besteht aus Einelektron-Operatoren \mathcal{H}_i , die nur von den Koordinaten der einzelner Elektronen und fest angenommenen Kernkoordinaten abhängen, und aus den Mehrelektronen-Operatoren \mathcal{H}_{jk} , welche die Elektron-Elektron-Wechselwirkung beschreiben:

$$\mathcal{H}_{\text{Molekül}} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_{i=1}^n \vec{\nabla}_i^2 - \sum_{j=1}^n \sum_{\ell=1}^{N_{\text{Kern}}} \frac{Z_\ell e^2}{\|\vec{r}_j - \vec{r}_\ell\|} - \sum_{j < k} \frac{e^2}{\|\vec{r}_j - \vec{r}_k\|} \quad (7.19)$$

welcher mithilfe der obigen Schreibweisen verkürzt werden kann:

$$\mathcal{H}_{\text{Molekül}} = \sum_{i=1}^n \mathcal{H}_i + \sum_{j < k} \mathcal{H}_{jk}. \quad (7.20)$$

Die Hartree-Fock-Methode ist ein Optimierungsverfahren, d. h. die Energie des Systems wird relativ zu einem Satz Wellenfunktion minimiert. Bei der Berechnung der Energie entstehen viele Terme mit jeweils einer Produktwellenfunktion links- und rechtseitig vom Hamilton-Operator. Wählt man aber für die Wellenfunktionen ϕ_i zueinander orthogonale

7 QUANTENMECHANIK VON MOLEKÜLEN

Funktionen, kann gezeigt werden, dass viele dieser Terme verschwinden. Der Kern-Anteil der Fock-Energie eines Testelektrons i E_{Kern} lautet:

$$E_{\text{Kern}} = \sum_{k=1}^n \langle \phi_k(i) | \mathcal{H}_i | \phi_k(i) \rangle. \quad (7.21)$$

Die Wechselwirkungsenergie E_{Elektron} zweier Testelektronen i und j lautet:

$$E_{\text{Elektron}} = \sum_{k \neq \ell} \left[\langle \phi_k(i) \phi_\ell(j) | \mathcal{H}_{ij} | \phi_k(i) \phi_\ell(j) \rangle - \langle \phi_k(i) \phi_\ell(j) | \mathcal{H}_{ij} | \phi_\ell(i) \phi_k(j) \rangle \right]. \quad (7.22)$$

Nun kann man ein Fock-Operator F_i definieren, welcher ähnlich dem Hartree-Verfahren nur noch die Wirkung der mittleren Elektronenverteilung auf ein Elektron enthält:

$$\boxed{F_i = \mathcal{H}_i + e^2 \sum_{k \neq \ell} \left[\int d\vec{r}_j \frac{\phi_\ell(j)^* \phi_\ell(j)}{\|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|} - \int d\vec{r}_j \frac{\phi_\ell(j)^* \phi_k(j)}{\|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|} \right]} \quad (7.23)$$

Als Bestimmungsgleichung für das optimale Spinorbital ϕ_k ergibt sich damit:

$$\boxed{\left(-\frac{\hbar^2}{2m_e} \vec{\nabla}_i^2 - \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^{N_{\text{Kern}}} \frac{Z_k e^2}{\|\vec{r}_j - \vec{r}_k\|} + e^2 \sum_{k \neq \ell} \int d\vec{r}_j \frac{\phi_\ell(j)^* \phi_\ell(j)}{\|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|} - e^2 \sum_{k \neq \ell} \int d\vec{r}_j \frac{\phi_\ell(j)^* \phi_k(j)}{\|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|} \right) \phi_k(i) = \varepsilon_k \phi_k(i)} \quad (7.24)$$

Da die Wellenfunktion, nach der man diese Gleichung lösen möchte, auch Teil des rechten Integrals ist, handelt es sich hierbei um eine Integro-Differentialgleichung. Man definiert in obiger Gleichung noch den Coulomb-Operator $J_\ell(i)$ mit

$$J_\ell(i) \phi_k(i) = \left(e^2 \int d\vec{r}_j \frac{\phi_\ell(j)^* \phi_\ell(j)}{\|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|} \right) \phi_k(i) \quad (7.25)$$

und den Austausch-Operator $K_\ell(i)$ mit

$$K_\ell(i) \phi_k(i) = \left(e^2 \int d\vec{r}_j \frac{\phi_\ell(j)^* \phi_k(j)}{\|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|} \right) \phi_k(i). \quad (7.26)$$

Die meisten molekularen Systeme sind sogenannte **Closed-Shell-Systeme** mit zwei Elektronen pro räumlichen Orbital. Damit kann die Fock-Gleichung vereinfachend geschrieben werden:

$$\boxed{J_{k\ell} = \langle \phi_k(i) \phi_\ell(j) | \mathcal{H}_{ij} | \phi_k(i) \phi_\ell(j) \rangle \langle \sigma_k(i) | \sigma_k(i) \rangle \langle \sigma_\ell(j) | \sigma_\ell(j) \rangle} \quad (7.27)$$

$$\boxed{K_{k\ell} = \langle \phi_k(i) \phi_\ell(j) | \mathcal{H}_{ij} | \phi_\ell(i) \phi_k(j) \rangle \langle \sigma_k(i) | \sigma_\ell(i) \rangle \langle \sigma_\ell(j) | \sigma_k(j) \rangle} \quad (7.28)$$

$$\boxed{\left(\mathcal{H}_i + \sum_{\ell=1}^{n/2} [2J_\ell(i) - K_\ell(i)] \right) \phi_k(i) = \varepsilon_k \phi_k(i)} \quad (7.29)$$

8 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IM VAKUUM

$J_{k\ell}$ und $K_{k\ell}$ sind die Coulomb- und Austauschanteile zwischen zwei Elektronen in den Orbitalen k und ℓ , $\sigma_{k/\ell}$ beschreibt den Spinzustand des Orbitals. Es existiert nur eine Austauschwechselwirkung zwischen Elektronen mit gleichem Spin, daher ergeben sich doppelt so viele Coulomb-Integrale wie Austausch-Integrale. Allgemein stellt die Hartree-Fock-Gleichung eine Bestimmungsgleichung für die Spinorbitale in der Slater-Determinante dar. Allerdings werden die Orbitale bereits für die Bildung des Fock-Operators benötigt, weshalb die Lösung nur iterativ möglich ist. Ausgehend von einem Satz an Startorbitalen werden zunächst die Operatoren J_ℓ und K_ℓ gebildet und die Hartree-Fock-Gleichung gelöst. Die Lösung ergibt verbesserte Orbitale, die wiederum einen neuen Fock-Operator definieren. Das Verfahren wird weiter iteriert bis sich die Wellenfunktion bzw. die Energie nicht mehr ändert und man wie bei der Hartree-SCF-Methode eine selbstkonsistente Lösung erhält.

Die finale Wellenfunktion erlaubt schlussendlich die Berechnung der Gesamtenergie und der Elektronenverteilung in einem Molekül für jeweils vorgegebene Kernkoordinaten. In der Praxis werden im Hartree-Fock-Verfahren die Orbitale meist durch eine Linearkombination von Gauß-artigen Funktionen beschrieben, um die auftretenden Integrale effektiv (analytisch) lösen zu können. Es ist auch möglich durch mehrmaliges Anwenden des Hartree-Fock-Verfahrens die Position der Kerne zu optimieren. Für dieses **Geometrie-optimierung** genanntes Verfahren werden die Gradienten der Energie der Wellenfunktion bezüglich der Kernkoordinaten berechnet und optimiert. Das Hartree-Fock-Verfahren eignet sich nur für kleine Elektronensystem, da der numerische Aufwand schnell mit zunehmender Zahl an Elektronen steigt (meist von der Ordnung $\mathcal{O}(n^3)$ oder sogar $\mathcal{O}(n^4)$).

8 Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen im Vakuum

8.1 Elektrisches Potential und Elektrostatische Wechselwirkungen

Mit der Kenntnis der Elektronenwellenfunktion ist es möglich, die Elektronenverteilung $\rho_{\text{Elektron}}(\vec{r}_e)$ und damit das elektrische Potential $\Phi(\vec{R})$ am Ort \vec{R} zu berechnen:

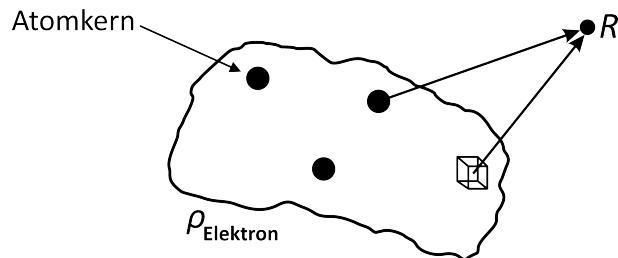
$$\boxed{\Phi(\vec{R}) = \sum_{i=1}^{N_{\text{Kern}}} \frac{Z_i e}{\|\vec{R} - \vec{r}_i\|} + \int d\vec{r}_e \frac{\rho_{\text{Elektron}}(\vec{r}_e)}{\|\vec{R} - \vec{r}_e\|}} \quad (8.1)$$

Das Potential ist aus einem Anteil für die Kernanziehung und einem Kontinuumsbeitrag der Elektronenverteilung aufgebaut.

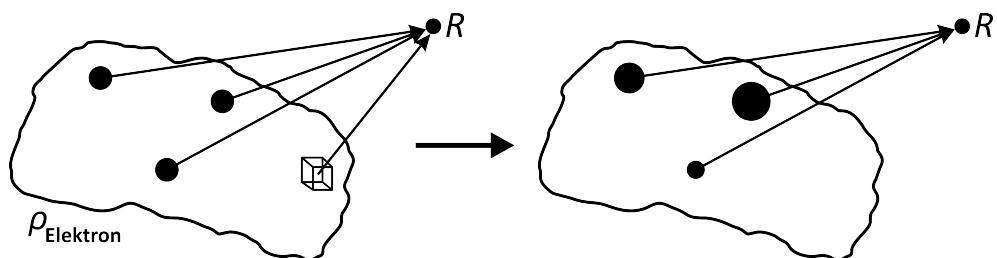
Für ausreichend großen Abstand vom Molekül kann die kontinuierliche Ladungsverteilung durch effektive Ladungen Z^{eff} (z.B. an den Kernorten) näherungsweise beschrieben werden. Das elektrische Potential vereinfacht sich damit zu:

$$\Phi(\vec{R}) = \sum_{i=1}^{N_{\text{Kern}}} \frac{Z_i e}{\|\vec{R} - \vec{r}_i\|} + \int d\vec{r}_e \frac{\rho_{\text{Elektron}}(\vec{r}_e)}{\|\vec{R} - \vec{r}_e\|} \approx \Phi_{\text{eff}}(\vec{R}) = \sum_{i=1}^{N_{\text{Kern}}} \frac{Z_i^{\text{eff}} e}{\|\vec{R} - \vec{r}_i\|}. \quad (8.2)$$

8 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IM VAKUUM



Z^{eff} kann dabei auch als die effektive (abgeschirmte) Ladungen der Atomkerne betrachtet werden.

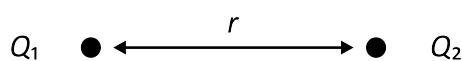


Die Hartree-Fock-Methode und damit verwandte quantenmechanische Methoden erlauben es, die Wellenfunktion und die chemische Struktur von Molekülen bei Vorliegen kovalenter Wechselwirkungen zu berechnen; in der Biophysik spielen aber nicht-kovalente Wechselwirkungen eine bedeutende Rolle. Die nicht-kovalenten Wechselwirkungen werden oft auf folgende Art eingeteilt:

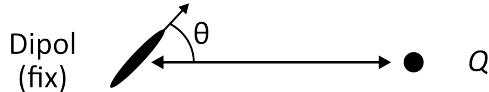
- Elektrostatische (Coulomb-)Wechselwirkungen
- Polarisationskräfte
- Kräfte quantenmechanischen Ursprungs

Für ausreichend große Entfernung zwischen Molekülen können die auftretenden Wechselwirkungen durch klassische Näherungen beschrieben werden. Die im Vakuum für Abstände $r \gg R_{\text{vdW},1} + R_{\text{vdW},2}$ (van-der-Waals-Radius R_{vdW}) dominierenden elektrostatischen Wechselwirkungen sind:

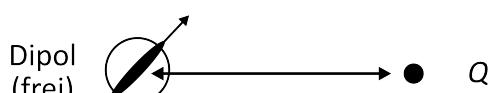
$$\bullet \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon_0 r}$$



$$\bullet \frac{Q\mu \cos(\theta)}{4\pi\epsilon_0 r^2}$$



$$\bullet \frac{Q^2 \mu^2}{6(4\pi\epsilon_0)^2 R T r^4}$$



8 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IM VAKUUM

• $\frac{\mu_1^2 \mu_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 R T r^6}$

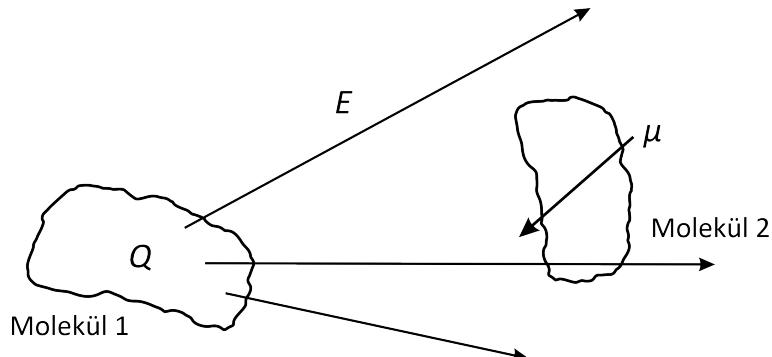
Das Verhalten des Exponenten im Nenner setzt sich entsprechend fort; für Multipol-Wechselwirkungen fallen die Energien schneller als $\frac{1}{r^6}$ ab.

8.2 Polarisationswechselwirkung

Die elektrischen Felder verursacht von den Ladungen auf einem Molekül können benachbarte Moleküle polarisieren und deren Ladungsverteilung verändern. Die elektrische Polarisation bewirkt eine Polarisationswechselwirkung zwischen den Molekülen. Die Polarisationseffekte können quantenmechanisch näherungsweise mithilfe der Störungstheorie berechnet werden, aber eingeschränkt auf induzierte Dipole und kleine Felder gilt klassisch genähert:

$$\vec{\mu}_{\text{Polarisation}} = \alpha \cdot \vec{E}, \quad (8.3)$$

wobei α im Allgemeinen ein Tensor zweiter Stufe ist.



Die Energie W_{ind} , welche ein Körper durch Wechselwirkung seiner Polarisation $\vec{\mu}_{\text{Polarisation}}$ mit dem elektrischen Feld \vec{E} eines anderen Körpers erhält, lautet:

$$W_{\text{ind}} = - \int_0^{\vec{E}} d\vec{E} \cdot \vec{\mu}_{\text{Polarisation}} = - \frac{\alpha_{\text{elek}}}{2} \|\vec{E}\|^2. \quad (8.4)$$

Ist das elektrische Feld über ein geladenes Ion gegeben, also $\|\vec{E}\| = \frac{Q}{4\pi\epsilon_0 r^2}$, gilt für die Energie:

$$W_{\text{ind}}^{\text{ion}}(r) = - \frac{\alpha_{\text{elek}} Q^2}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^4} \propto \frac{1}{r^4} \quad (8.5)$$

Neben der elektrischen Polarisation existieren noch andere Formen wie die *Orientierungspolarisation*. Diese Form der Polarisation beschreibt die mittlere Polarisationsausrichtung

8 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IM VAKUUM

eines Dipols mit fester Polarisation $\vec{\mu}_{\text{Dipol}}$ im elektrischen Feld eines geladenen Körpers. Man berechnet dafür den Erwartungswert der Polarisation bezüglich des elektrischen Felds unter Verwendung der Boltzmann-Statistik:

$$\|\vec{\mu}_{\text{Orient}}\| = \frac{\int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^\pi d\theta \sin(\theta) \cos(\theta) \|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\| \exp\left(-\frac{\cos(\theta)\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|\|\vec{E}\|}{RT}\right)}{\int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^\pi d\theta \sin(\theta) \exp\left(-\frac{\cos(\theta)\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|\|\vec{E}\|}{RT}\right)}. \quad (8.6)$$

Unter der Bedingung, dass das Dipol- und elektrische Feld kleine sind im Vergleich zur thermischen Energie – also $\frac{\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|\|\vec{E}\|}{RT} \ll 1$ –, können die Exponentialfunktionen linearisiert werden:

$$\begin{aligned} \|\vec{\mu}_{\text{Orient}}\| &\approx \frac{\int_0^\pi d\theta \sin(\theta) \cos(\theta) \|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\| \left(1 - \frac{\cos(\theta)\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|\|\vec{E}\|}{RT}\right)}{\int_0^\pi d\theta \sin(\theta) \left(1 - \frac{\cos(\theta)\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|\|\vec{E}\|}{RT}\right)} \\ &= \frac{\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|^2 \|\vec{E}\|}{3RT}. \end{aligned} \quad (8.7)$$

Interpretiert man den Term $\frac{\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|^2}{3RT}$ als Orientierungspolarisierbarkeit α_{Orient} , so gilt für die Gesamtpolarisierbarkeit α_{ges} eines Körpers:

$$\alpha_{\text{ges}} \approx \alpha_{\text{elek}} + \frac{\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|^2}{3RT} \quad (8.8)$$

Wechselwirkt ein polarisierbares Teilchen mit permanentem Dipol mit dem elektrischen Feld eines Ions, so besitzt es die Energie:

$$W_{\text{ind}}^{\text{ion}}(r) = -\frac{Q^2}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^4} \left(\alpha_{\text{elek}} + \frac{\|\vec{\mu}_{\text{Dipol}}\|^2}{3RT} \right). \quad (8.9)$$

Wechselwirkt es aber mit einem anderen polarisierbaren Teilchen, handelt es sich also um die Wechselwirkung zwischen zwei polaren Teilchen, so besitzt es ungefähr die Energie:

$$W(r) \approx -\frac{\|\vec{\mu}_{\text{Dipol},1}\|^2 \alpha_{\text{elek},2} + \|\vec{\mu}_{\text{Dipol},2}\|^2 \alpha_{\text{elek},1}}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6} - \frac{\|\vec{\mu}_{\text{Dipol},1}\|^2 \|\vec{\mu}_{\text{Dipol},2}\|^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 R T r^6} \quad (8.10)$$

Der erste Term der Energie heißt Debye-Interaktion, der zweite wird als Keesom-Energie bezeichnet.

8 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IM VAKUUM

8.3 Dispersionswechselwirkungen

Selbst Atome oder Moleküle ohne Ladungen wie Edelgase können durch Polarisationsinteraktionen wechselwirken. Dabei induzieren Fluktuationen in den Elektronenverteilungen eines entsprechenden Atoms eine Ladungsverschiebung (d. h. Polarisation) in benachbarten Atomen. Die damit beschriebene **London-Dispersionsinteraktion** besitzt dieselbe Abstandsabhängigkeit wie die Wechselwirkung zwischen zwei Dipolen:

$$W_{\text{London}}(r) \propto \frac{\alpha_{\text{elek},1}\alpha_{\text{elek},2}}{r^6} \quad (8.11)$$

Es sollte noch angemerkt werden, dass unter relativistischer Betrachtung dieser Interaktion, d. h. die zeitverzögerte Antwort der anderen Atome bedingt durch die endliche Ausbreitungsgeschwindigkeit des elektrischen Feldes wird beachtet, auch höhere Potenzen des Abstandes (in der Regel $\propto \frac{1}{r^7}$) in der obigen Formel auftreten, die Formel also nur den klassisch genäherten Fall behandeln. Damit gilt für die insgesamt auftretende Wechselwirkung zwischen polarisierbaren Molekülen in Vakuum (für $r \gg R_{\text{vdW},1} + R_{\text{vdW},2}$):

$$W_{\text{ges}}(r) \approx W_{\text{elek}} - \frac{C_{\text{ind}} + C_{\text{Orient}} + C_{\text{dis}}}{r^6}, \quad (8.12)$$

wobei $C_{\text{ind/Orient/dis}}$ entsprechende Konstanten sind. Im Falle von Ionen gibt es noch eine $\frac{1}{r^4}$ -Term und für nicht-polare Partner liegen nur Dispersionswechselwirkungen vor. Insgesamt ergeben sich für polarisierbare Atome (bei Abständen $r \gg R_{\text{vdW},1} + R_{\text{vdW},2}$) die folgenden dominierenden Wechselwirkungen:

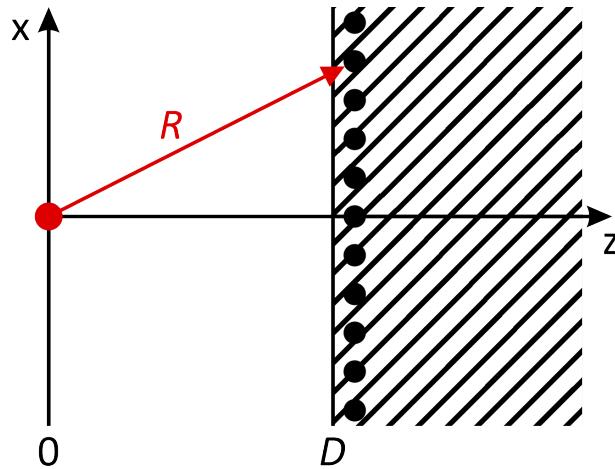
$\bullet \frac{\alpha Q^2}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^4}$	Q		unpolar
$\bullet \frac{\alpha\mu^2(1 - 3\cos^2(\theta))}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$	Dipol (fix)		unpolar
$\bullet \frac{\alpha\mu^2}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$	Dipol (frei)		unpolar
$\bullet \frac{3h\nu\alpha^2}{4(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$	un-polar		unpolar

Grundsätzlich hängt die Abstandsabhängigkeit der Dispersionswechselwirkung von der Verteilung der Atome ab, der Zusammenhang

$$W(r) \approx -\frac{C_{\text{dis}}}{r^6} \quad (8.13)$$

gilt also nur für die Wechselwirkung zwischen einzelnen Atomen.

8 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IM VAKUUM



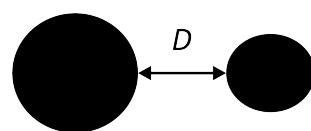
Ein denkbares, in der Natur auftauchendes, dispersiv wechselwirkendes System wäre ein Teilchen vor einer Membran/Oberfläche aus Teilchen mit Dichte ρ im Abstand D . Um die Gesamtdispersionswechselwirkung der Oberfläche mit dem einzelnen Teilchen (im Ursprung) zu berechnen, wird die Wechselwirkung des Atoms mit einem Flächenelement $2\pi x \, dx$ der Oberfläche im Abstand $R = \sqrt{x^2 + z^2}$ betrachtet und über alle möglichen Radien des Flächenelements und über die gesamte Tiefe der Oberfläche integriert:

$$\begin{aligned}
 W(D) &\approx -C_{\text{dis}}\rho \int_D^\infty dz \int_0^\infty dx \frac{2\pi x}{(x^2 + z^2)^3} \\
 &= -\frac{\pi C_{\text{dis}}\rho}{2} \int_D^\infty dz \frac{1}{z^4} \\
 &= -\frac{\pi C_{\text{dis}}\rho}{6D^3} \propto \frac{1}{D^3}
 \end{aligned} \tag{8.14}$$

Für andere Geometrien der wechselwirkenden Körper gelten die folgenden Zusammenhänge:

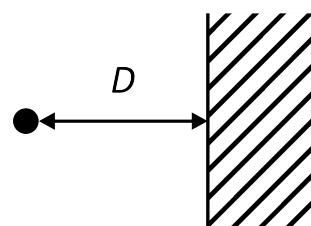
- Ausgedehnte Teilchen mit Radius $R_{1/2}$

$$W(D) \approx -\frac{AR_1R_2}{6D(R_1 + R_2)} \propto \frac{1}{D}$$



- Teilchen vor einer Oberfläche (z. B. einer Membran)

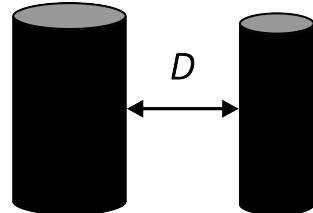
$$W(D) \approx -\frac{\pi C_{\text{dis}}\rho}{6D^3} \propto \frac{1}{D^3}$$



8 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IM VAKUUM

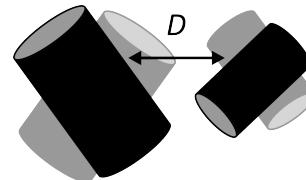
- Starre, zylinderförmige Teilchen mit Höhe L (z. B. einfache Näherung von zwei DNA-Strängen)

$$W(D) \approx -\frac{AL}{12\sqrt{2}D^{\frac{3}{2}}} \sqrt{\frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2}} \propto \frac{1}{D^{\frac{3}{2}}}$$



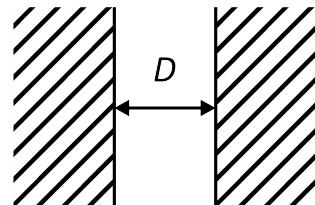
- Frei bewegliche, zylinderförmige Teilchen

$$W(D) \approx -\frac{A\sqrt{R_1 R_2}}{6D} \propto \frac{1}{D}$$



- Zwei Oberflächen einander gegenüber

$$W(D) \approx -\frac{A}{12\pi D^2} \propto \frac{1}{D^2}$$



wobei die Hamakerkonstante $A = \pi^2 \rho_1 \rho_2$ eingeführt wurde.

8.4 Wechselwirkungen quantenmechanischen Ursprungs

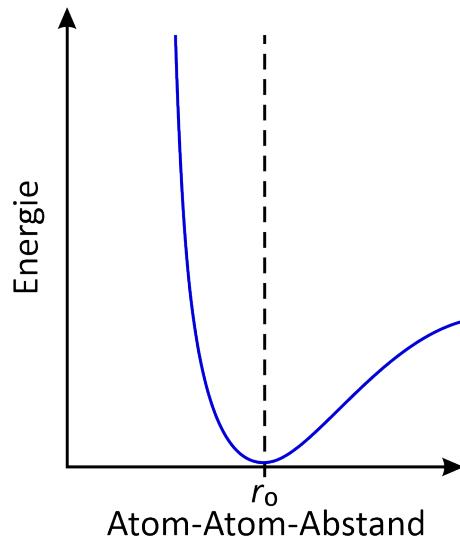
Chemisch ungebundene Atome stoßen sich auf kurzer Entfernung stark voneinander ab. Der Grund der Abstoßung liegt im Pauli-Prinzip, welches aussagt, dass keine zwei Elektronen am gleichen Ort und im gleichen Spinzustand zugelassen sind. Für gebundene Atome kann der Abstand kleiner als die Summe der jeweiligen van-der-Waals-Radien werden, da sich dort die Elektronen die Orbitale beider Atome teilen und Molekülorbitale bilden.

Die Energie der Abstoßung wächst für kleine Abstände sehr schnell an, um diesen Anstieg zu beschreiben existieren verschiedene Ansätze:

- Sprungfunktion (Atome als harte Kugel)

$$V(r_{ij}) = \begin{cases} \infty & r_{ij} < r_0 \\ 0 & r_{ij} \geq r_0 \end{cases} \quad (8.15)$$

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG



- Exponentialfunktion

$$V(r_{ij}) = K_{ij} e^{-ar_{ij}} \quad (8.16)$$

- $\frac{1}{r_{ij}^{12}}$ -Funktion

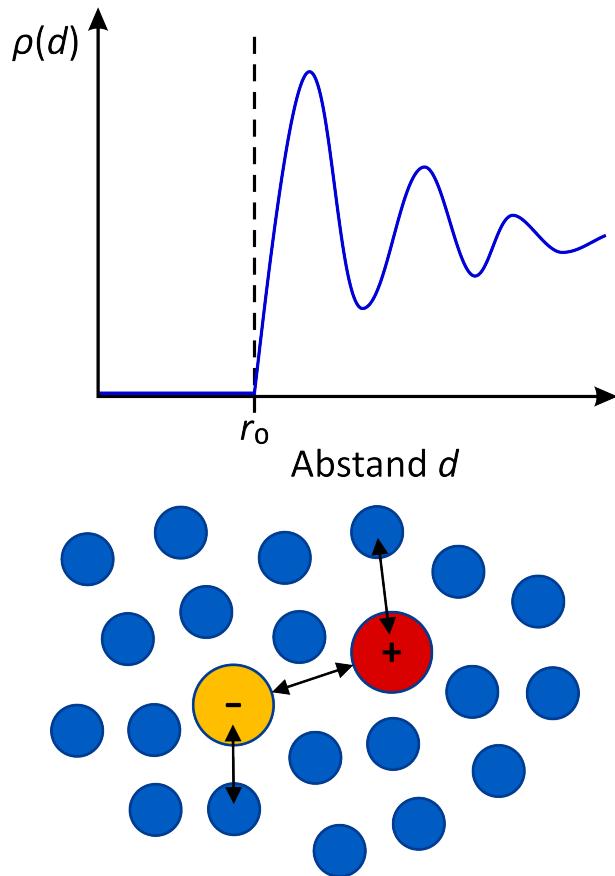
$$V(r_{ij}) = 4\epsilon_{ij} \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} \quad (8.17)$$

Dabei sind $\sigma_{ij}, \epsilon_{ij}$ Atom-spezifische Parameter und $r_{ij} = \|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|$ ist der Abstand zwischen den Atomen i und j .

9 Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen in Lösung

Neben der direkten Interaktion zwischen zwei (einzelν vorliegenden) Molekülen A und B wechselwirken die Moleküle in einer Lösung auch mit dem umgebenden Solvens (Lösungsmittel). Die Interaktion mit dem Solvens beeinflusst dabei auch die auftretende effektive Interaktion zwischen den Molekülen A und B, wodurch sich Teilchen- und kollektive Eigenschaften ändern können. Betrachtet man als Beispiel eine Lösung aus Teilchen mit Harte-Kugel-Potential und darin die Wahrscheinlichkeitsverteilung des Abstandes zwischen zwei Teilchen, so oszilliert die resultierende Funktion, obwohl es außer der Lösungsinteraktion keine weiteren Interaktionen (zwischen den Teilchen) gibt.

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

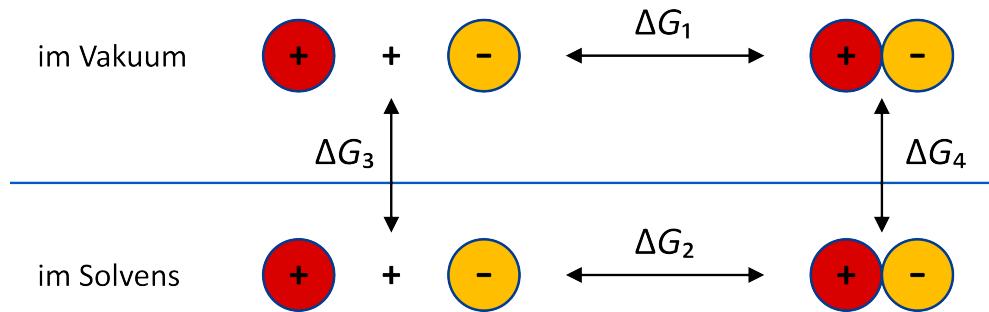


9.1 Wechselwirkung von Ionen und Solvatisierung

Zunächst sollen zwei Ionen gelöst in einer wässrigen Umgebung betrachtet werden. Da Wasser einen Dipolcharakter besitzt, kann die wässrige Lösung als ein Dielektrikum angesehen werden. Das Dielektrikum wiederum schwächt die elektrostatische Anziehung zwischen den Ionen ab, kann sie aber nicht vollständig aufheben. In der Praxis aber verhalten sich die Ionen wie freie Teilchen ohne weitere Anziehung, sie sind also vollständig gelöst. Dieser Umstand liegt in der **Hydratisierung** der Ionen (im Allgemeinen für andere Lösungsmittel **Solvatisierung**), d. h. dem Anlagern von Wasserteilchen um die Ionen. Der Ursprung der Hydratisierung liegt in der Energetik des Lösungsvorgangs: betrachtet man zuerst die beiden Ionen im Vakuum, so bewirkt die Coulomb-Anziehung eine Assoziation der beiden Teilchen mit der entsprechenden Energieveränderung ΔG_1 , das selbe geschieht auch im Solvens, nur mit einer geschwächten Anziehung und der Energieveränderung ΔG_2 . Zweitens muss aber auch der energetische Unterschied zwischen den getrennten bzw. assoziierten Ionen im Vakuum und in der Lösung ΔG_3 bzw. ΔG_4 beachtet werden. Da der thermodynamische Kreislauf abgeschlossen ist, gilt für die Energieänderungen:

$$\Delta G_1 - \Delta G_2 - \Delta G_3 + \Delta G_4 = 0, \quad (9.1)$$

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

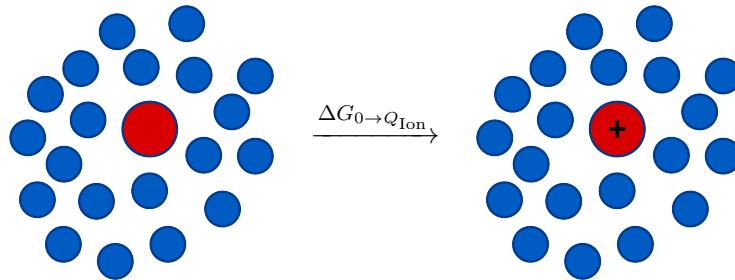


wobei der Prozess im Uhrzeigersinn abgelaufen wurde. Die für die Solvatisierung relevante Energie ist ΔG_2 mit

$$\Delta G_2 = \Delta G_1 - \Delta G_3 + \Delta G_4, \quad (9.2)$$

d. h. die Solvatisierung der Einzelionen wird von der Energie abgezogen. Wenn also die Solvatisierung der Einzelionen favorisiert ist gegenüber der Solvatisierung des Ionenkomplexes, dann dissoziieren die Ionen in der wässrigen Lösung. Anschaulich gesprochen wird die Coulomb-Anziehung der Ionen untereinander durch die Solvatisierung der Ionen ausgeglichen oder sogar „überkompensiert“.

Wie kann nun die Assoziation von zwei Teilchen in wässriger Umgebung quantifiziert werden? Dafür wird die Freie Energie $\Delta G_{0 \rightarrow Q_{\text{Ion}}}$ eines ungeladenen Teilchens im Solvens betrachtet, welches von $Q = 0$ auf Q_{Ion} aufgeladen wird. (Dies ist nur ein Teilvorgang des Lösens eines Ions, da die Bildung einer Cavity (engl. Hohlraum) nicht berücksichtigt wird, sondern nur der Einfluss der Elektrostatik auf die Lösung.)



Die Energie des Teilchens ist ganz allgemein eine Funktion der Position des Ions \vec{R}_{Ion} , seiner Ladung Q_{Ion} , der Positionen des Solvens \vec{r}_{Solvans} und deren Ladung q_{Solvans} :

$$E_{\text{Ion}+\text{Solvans}} = E(\vec{R}_{\text{Ion}}, Q_{\text{Ion}}, \vec{r}_{\text{Solvans}}, q_{\text{Solvans}}). \quad (9.3)$$

Damit kann nun die Zustandssumme $Z_{\text{Ion}+\text{Solvans}}$ der Lösung berechnet werden:

$$Z_{\text{Ion}+\text{Solvans}} = \int d\vec{R} d^N \vec{r} e^{-\beta E(\vec{R}_{\text{Ion}}, Q_{\text{Ion}}, \vec{r}_{\text{Solvans}}, q_{\text{Solvans}})}, \quad (9.4)$$

woraus über $G = -RT \ln(Z)$ die Freie Energie des Aufladungsprozesses folgt:

$$\Delta G_{0 \rightarrow Q_{\text{Ion}}} = -RT \ln \left(\frac{Z_{\text{Ion}+\text{Solvans}}(\vec{R}_{\text{Ion}}, Q_{\text{Ion}}, \vec{r}_{\text{Solvans}}, q_{\text{Solvans}})}{Z_{\text{Ion}+\text{Solvans}}(\vec{R}_{\text{Ion}}, 0, \vec{r}_{\text{Solvans}}, q_{\text{Solvans}})} \right). \quad (9.5)$$

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

Für komplexe Systeme ist dieser Weg der Quantifizierung der Solvatisierung nur schlecht geeignet, da die Komplexität des Integrals schnell zunimmt. Man führt deshalb eine Näherung ein: die Umgebung wird als ein Kontinuum angenommen anstelle der einzelnen Solvens-Teilchen. Das Aufladen des Ions in der Lösung kommt demnach einem Aufladen in einem dielektrischen Kontinuum gleich. Der Effekt, dass das Solvens einzelne Ladung stabilisieren kann, bleibt dabei erhalten (Reaktionsfeld). Um die Energie des Aufladeprozesses zu berechnen, lässt man das Teilchen mit kleinen, aus dem unendlichen kommenden Ladungen dq bis zur Ionenladung Q_{Ion} auf. Die Arbeit, die dabei verrichtet werden muss lautet:

$$dW = \frac{q dq}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r R_{\text{Ion}}}, \quad (9.6)$$

mit der relativen Permittivität ϵ_r des umgebenden Kontinuums, womit nach Integration für die Energie gilt:

$$W_{0 \rightarrow Q_{\text{Ion}}} = \int_0^{Q_{\text{Ion}}} dq \frac{q}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r R_{\text{Ion}}} = \frac{Q_{\text{Ion}}^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r R_{\text{Ion}}}. \quad (9.7)$$

Diese Energie wird als **Bornenergie** von geladenen, sphärischen Partikeln bezeichnet. Führt man den Prozess einmal im Vakuum und einmal im Dielektrikum durch, dann entspricht die Differenz gerade der Energie, die ein Ion beim Transfer vom Vakuum in ein Dielektrikum erhält:

$$\Delta W_{0 \rightarrow Q_{\text{Ion}}} = \frac{Q_{\text{Ion}}^2}{8\pi\epsilon_0 R_{\text{Ion}}} \left(\frac{1}{\epsilon_r} - 1 \right) \quad (9.8)$$

Bei einer geeigneten Wahl des Ionenradius führt diese einfache Näherung zu einer guten Übereinstimmung mit Experiment.

9.2 Elektrostatische Wechselwirkung beliebiger Moleküle

Im Unterschied zu einfachen Ionen besitzen Biomoleküle wie z. B. Proteine eine komplizierte Ladungsverteilung samt häufig komplexer, äußerer Geometrie. Es ist deshalb nachvollziehbar, dass die Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkung solcher Moleküle mit anderen Teilchen und dem umgebenden Dielektrikum nur schwer durchzuführen ist. Die Basis zur Berechnung der elektrostatischen Energie des Moleküls bildet die **Poisson-Boltzmann-Gleichung**:

$$\vec{\nabla}(\epsilon(\vec{r}) \vec{\nabla} \varphi(\vec{r})) = -\rho_{\text{real}}(\vec{r}) - \sum_i c_i^{\text{bulk}} q_i \lambda_i \exp\left(-\frac{q_i \varphi(\vec{r})}{RT}\right) \quad (9.9)$$

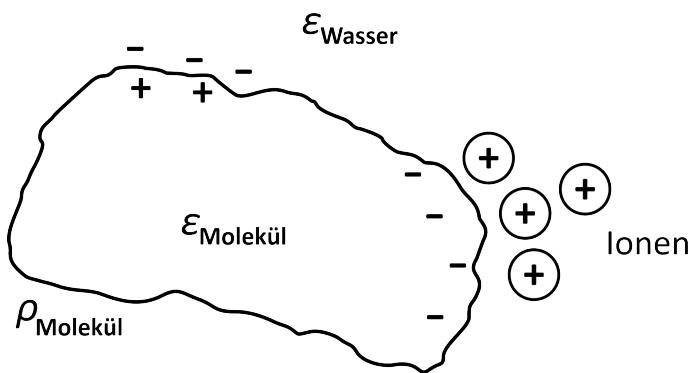
Dabei bezeichnet $\epsilon(\vec{r})$ die ortsabhängige elektrische Permittivität, $\rho_{\text{real}}(\vec{r})$ die (reale) Ladungsdichte des Moleküls, c_i^{bulk} die Konzentration eines Ions in unendlicher Entfernung und λ ist die Beweglichkeit/Zugänglichkeit der Ionen. Um die Struktur der

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

Poisson-Boltzmann-Gleichung zu erklären, wird diese zuerst etwas umgestellt:

$$\varepsilon(\vec{r}) \vec{\nabla}^2 \varphi(\vec{r}) = -\rho_{\text{real}}(\vec{r}) - \vec{\nabla} \varepsilon(\vec{r}) \cdot \vec{\nabla} \varphi(\vec{r}) - \sum_i c_i^{\text{bulk}} q_i \lambda_i \exp\left(-\frac{q_i \varphi(\vec{r})}{RT}\right). \quad (9.10)$$

In dieser Gleichung sind nun die drei Quellterme des elektrischen Potentials des Moleküls leicht zu erkennen: der erste Term beschreibt die reale Ladung des Moleküls, der zweite Term ist der Beitrag der Polarisation hervorgerufen durch einen Gradienten im Potential als auch in der Permittivität und der letzte Term beschreibt die mögliche Anlagerung von Ionen am Molekül.



9.3 Debye-Hückel-Gleichung

In vielen Fällen ist die Ladungsdichte der betrachteten Moleküle vergleichsweise klein. Als Folge kann angenommen werden, dass die elektrostatische Energie des Moleküls viel kleiner als die mittlere Energie pro Freiheitsgrad ist:

$$q_i \varphi(\vec{r}) \ll RT. \quad (9.11)$$

Mit dieser Annahme kann die Poisson-Boltzmann-Gleichung linearisiert werden:

$$\begin{aligned} \vec{\nabla}(\varepsilon(\vec{r}) \vec{\nabla} \varphi(\vec{r})) &= -\rho_{\text{real}}(\vec{r}) - \sum_i c_i^{\text{bulk}} q_i \lambda_i \exp\left(-\frac{q_i \varphi(\vec{r})}{RT}\right) \\ &\approx -\rho_{\text{real}}(\vec{r}) - \sum_i c_i^{\text{bulk}} q_i \lambda_i \left(1 - \frac{q_i \varphi(\vec{r})}{RT}\right) \end{aligned} \quad (9.12)$$

Die Summe $\sum_i c_i^{\text{bulk}} q_i \lambda_i$ ist gleich null, da die gelösten Ionen insgesamt elektrisch neutral sein sollen, damit folgt weiter:

$$\vec{\nabla}(\varepsilon(\vec{r}) \vec{\nabla} \varphi(\vec{r})) \approx -\rho_{\text{real}}(\vec{r}) + \sum_i c_i^{\text{bulk}} \lambda_i \frac{q_i^2 \varphi(\vec{r})}{RT}$$

(9.13)

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

Sucht man eine Lösung nur im Außenraum des Moleküls und nimmt die elektrische Permittivität als konstant an, d. h. es sollen also keine dielektrischen Grenzen vorkommen, dann wird aus obiger Gleichung die **Debye-Hückel-Gleichung**:

$$\vec{\nabla}^2 \varphi(\vec{r}) = \kappa^2 \varphi(\vec{r}) - \frac{\rho_{\text{real}}(\vec{r})}{\varepsilon_0 \varepsilon_r} \quad (9.14)$$

wobei die Debye-Länge (engl. Debye Screening Length) mit

$$\frac{1}{\kappa} = \sqrt{\frac{\varepsilon_0 \varepsilon_r R T}{2q^2 c^{\text{bulk}}}} \quad (9.15)$$

eingeführt wurde. Die Debye-Länge kann als eine effektive Reichweite der Elektrostatik des Moleküls angesehen werden.

Als einfaches Beispiel soll zuerst die Debye-Hückel-Gleichung für ein sphärischen Molekül – vergleichbar mit einer geladenen Kugel – gelöst werden. Da die Ladung des Moleküls nur durch angelagerte Ionen an seiner Oberfläche entsteht, gilt $\rho_{\text{real}} = 0$, womit in Kugelkoordinaten für die Debye-Hückel-Gleichung folgt:

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial \varphi(r)}{\partial r} \right) = \kappa^2 \varphi(r). \quad (9.16)$$

Die allgemeine Lösung dieser Differentialgleichung lautet:

$$\varphi(r) = \frac{A e^{-\kappa r} + B e^{\kappa r}}{r} \quad (9.17)$$

woraus mit der Randbedingung für $\varphi(r)$ am Rand der Kugel und $\varphi(r) \xrightarrow{r \rightarrow \infty} 0 \iff B = 0$ folgt:

$$\varphi(r) = \frac{Q_P}{4\pi \varepsilon_0 \varepsilon_r (1 + \kappa R_P)} \frac{e^{-\kappa(r-R_P)}}{r} \quad (9.18)$$

mit der endgültigen Ladung des Teilchens Q_P und seinem Radius R_P .

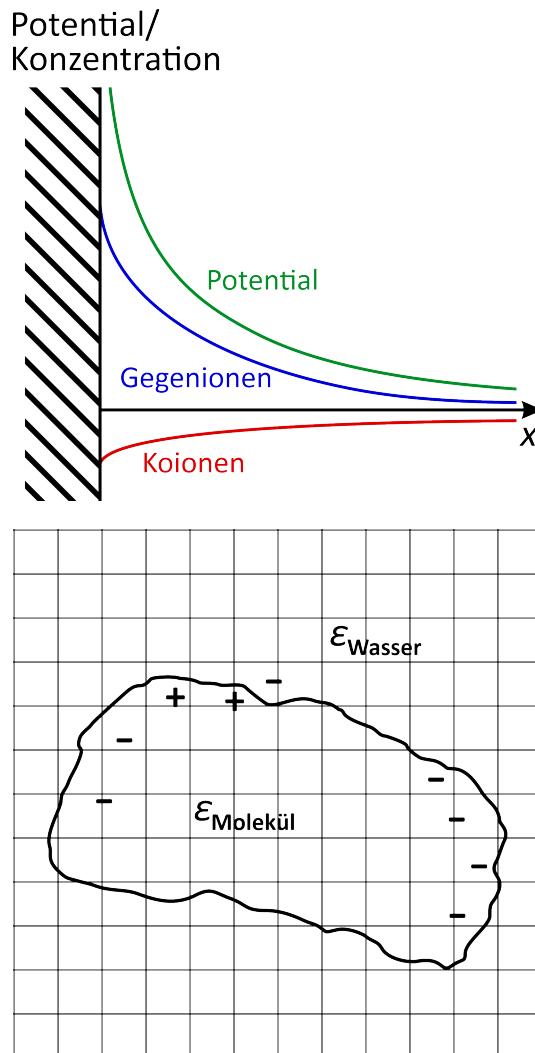
Als nächstes soll das Potential für eine geladene Fläche (wie sie in der Natur z. B. bei Phospholipidmembranen von Zellen auftritt) angegeben werden. Die eigentliche Rechnung ist etwas länglich, doch für ein monovalentes (einwertiges) Elektrolyt gilt für das Potential abschließend:

$$\varphi(x) = \frac{2RT}{e} \ln \left(\frac{1 + \gamma e^{-\kappa x}}{1 - \gamma e^{-\kappa x}} \right), \quad (9.19)$$

wobei $\gamma = \tanh \left(\frac{e\varphi(0)}{RT} \right)$ mit dem Wert des Potentials an der Fläche $\varphi(0)$ ist. Für kleine Ladungsdichten an der Oberfläche vereinfacht sich das Potential zu

$$\varphi(x) \approx \varphi(0) e^{-\kappa x}, \quad (9.20)$$

also einfach exponentiell abfallend. Für zylindrische Geometrien fällt das Potential näherungsweise mit $\ln(r)$ ab.



9.4 Finite-Differenzen-Methode

Die Geometrien der meisten, in der Biophysik auftretenden Moleküle sind weitaus komplexer als Kugeln, Zylinder oder Flächen. Es bedarf deshalb einer numerisch einfacheren Methode, um die Elektrostatik dieser Moleküle im Kontinuum besser zu untersuchen. Im Rahmen der *Finite-Differenzen(-Poisson-Boltzmann)-Methode* (FDPB) wird die Ladungsverteilung des Moleküls als auch des Dielektrikums auf ein Gitter übertragen und die Ionenzugänglichkeit auf die Gitterpunkte gesetzt. Als namensgebender Schritt werden dann noch die Ableitungen durch Finite Differenzen (Diskrete Ableitungen) ersetzt:

$$\frac{d\varphi}{dx} \approx \frac{\varphi_{i+1} - \varphi_i}{h}, \quad \frac{d^2\varphi}{dx^2} \approx \frac{\varphi_{i+1} - 2\varphi_i + \varphi_{i-1}}{h^2}, \dots \quad (9.21)$$

Die Finite-Differenzen-Poisson-Boltzmann-Gleichung ist dann einfach mit numerischen Methoden lösbar. Die FDPB-Methode erlaubt damit die Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen in Lösung.

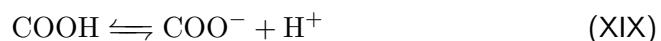
9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

tischen Energie und des elektrischen Potentials von Biomolekülen beliebiger Form in wässriger Umgebung innerhalb von nur Sekunden (für kleine Moleküle).

9.5 Protonierungsgleichgewichte

Grundsätzlich kann jede chemische Verbindung in welcher ein H–Atom involviert ist in Wasser dissoziieren. Bei einer Dissoziation kann sich die Ladung der chemischen Gruppe ändern. Nur wenige H-Dissoziationsprozesse sind für biologische Reaktionen relevant, im Grunde nur solche, die wenig Energie erfordern. Beispiele für Gruppen, wo es zu Dissoziation kommt, sind

- die Carboxylgruppe COOH (Asp, Glu)



- die Aminogruppe NH_3^+ (Lys, N-Terminus)



- das Imidazol HisH^+ (His)

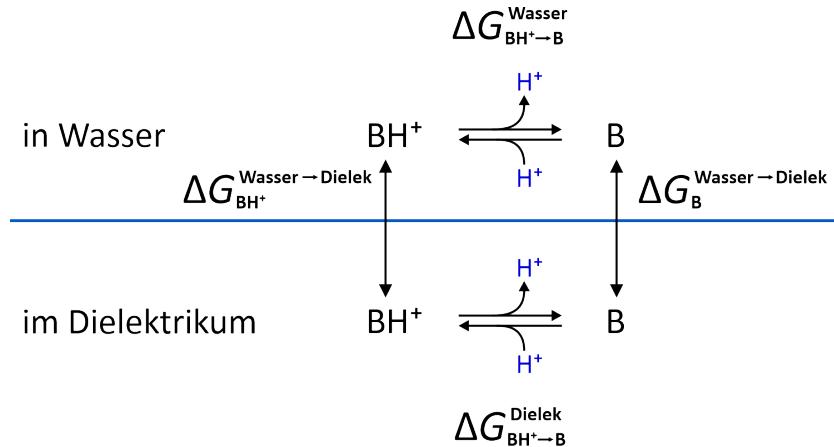


Änderungen des pH-Werts können die Lage des Gleichgewichts der Protonierungen verschieben, Enzyme inaktivieren, Proteine entfalten aber auch Komplexe dissoziieren. Das Protonierungsgleichgewicht wird durch den $pK_{\text{S/B}}$ der Säure/Base und der Henderson-Hasselbalch-Gleichung (vgl. Kapitel 2.2) bestimmt.

Um Vorhersagen darüber zu treffen, wie die einzelnen geladenen Gruppen eines Moleküls im Inneren sowie an der Oberfläche vorliegen, also neutral oder protoniert, muss das Protonierungsgleichgewicht berechnet werden. Vereinfacht gesagt wird das Protonierungsgleichgewicht einer chemischen Gruppe durch die Stabilität der zugrunde liegenden chemischen Bindung zum Proton bestimmt. Dieser Beitrag hängt von der Quantenmechanik der beteiligen Bindungen ab, ist aber aufgrund der vorhandenen Berechnungsmethoden nur begrenzt bestimmbar. Für die Biophysik ist es aber häufig nur von Interesse, wie sich das Protonierungsgleichgewicht im Vergleich zu einer reinen wässrigen Umgebung (d. h. im Vergleich zum intrinsischen $pK_{\text{S/B}}$) ändert. Allgemein können durch elektrische Felder oder Änderungen der dielektrischen Umgebung die Protonierungsgleichgewichte verändert werden, während elektrische Felder zusätzlich protonierte und nicht-protonierte Zustände unterschiedlich stark stabilisieren. Bedingt durch solche Vorgänge kann sich der $pK_{\text{S/B}}$ um mehrere pH-Einheiten verändern.

Betrachtet man jetzt den thermodynamischen Kreislauf eines (de-)protonierbaren Stoffes einmal in Wasser (z. B. für ein aufgefaltetes Protein, bei dem sich der Stoff an der

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG



Oberfläche befindet) und einmal in einem Dielektrikum (z. B. bei demselben Protein im gefalteten Zustand, sodass sich der Stoff im inneren befindet), dann können den entsprechenden Schritten im Kreisprozess verschiedene Energieänderungen zugewiesen werden, die (aufgrund der Abgeschlossenheit des Kreislaufes) zusammengerechnet null ergeben:

$$\Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}} + \Delta G_{\text{B}\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}} - \Delta G_{\text{B}\rightarrow\text{B}}^{\text{Dielek}} - \Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}} = 0. \quad (9.22)$$

Nach dem Massenwirkungsgesetz ist die Freie Standardreaktionsenergie ΔG^0 in Abhängigkeit der Gleichgewichtskonstante K_S über

$$\Delta G^0 = -RT \ln(K_S) \quad (9.23)$$

gegeben. Mit einem Rechengesetz des Logarithmus, nämlich das $\log_a(x) = \frac{\ln(x)}{\ln(a)}$, kann obige Gleichung in Abhängigkeit des pK_S ausgedrückt werden:

$$\Delta G^0 = \ln(10)RT \cdot pK_S \approx 2,3RT \cdot pK_S. \quad (9.24)$$

Damit kann nun die Änderung des intrinsischen pK_S durch eine Änderung der Umgebung bestimmt werden. Zuerst formt man Gleichung (9.22) nach $\Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Dielek}}$ um:

$$\Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Dielek}} = \Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}} + \Delta G_{\text{B}\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}} - \Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}} \quad (9.25)$$

und benutzt schließlich den obigen Zusammenhang:

$$pK_S^{\text{Dielek}} = pK_S^{\text{Wasser}} + \frac{\Delta G_{\text{B}\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}} - \Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}}}{2,3RT} \quad (9.26)$$

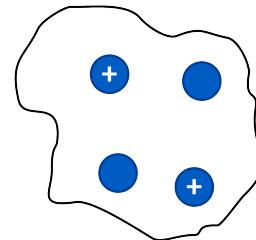
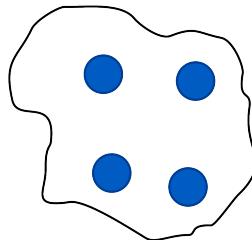
Die Beiträge $\Delta G_{\text{B}\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}}$ und $\Delta G_{\text{BH}^+\rightarrow\text{B}}^{\text{Wasser}\rightarrow\text{Dielek}}$ können mittels der FDPB-Methode näherungsweise berechnet werden.

In der Regel haben z. B. Proteine mehr als eine saure oder basische Seitenkette. Diese Seitenketten können miteinander wechselwirken und somit das Protonierungsgleichgewichte verschieben. Für N protonierbare Gruppen gibt es 2^N Protonierungszustände,

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

wobei jedem Protonierungszustand einzeln eine Freie Energie zugeordnet werden kann. Der mittlere Protonierungszustand des Moleküls bei einem gegebenen pH ist dann ein Ensemblemittelwert über alle möglichen Protonierungszustände.

neutral Referenzzustand



Beispiel eines Protonierungszustands mit zwei geladenen Resten

Um den Ensemble-Mittelwert zu berechnen, ist es zunächst sinnvoll, jedem Protonierungszustand durch einen Vektor $S = (s_1, s_2, \dots, s_N) \in \{0, 1\}^N$ zu beschreiben, wobei die i -te Komponente 0 für nicht-protonierte und 1 für protonierte Gruppen ist. Ändert man den Protonierungszustand eines Restes i von 0 (nicht-protoniert) auf 1 (protoniert), dann ändert sich die Freie Energie des Zustands wie folgt:

$$\begin{aligned}\Delta G_i &= G(s_1, \dots, s_{i-1}, 1, s_{i+1}, \dots, s_N) - G(s_1, \dots, s_{i-1}, 0, s_{i+1}, \dots, s_N) \\ &= \Delta G_{i,\text{int}}^{\text{prot}} + \sum_{j \neq i} (E_{i,j}^{1,s_j} - E_{i,j}^{0,s_j}),\end{aligned}\quad (9.27)$$

wobei $\Delta G_{i,\text{int}}^{\text{prot}}$ die Energieänderung durch die Protonierung in wässriger Umgebung gegenüber dem Dielektrikum (dem Molekül) beschreibt und $E_{i,j}^{1,s_j}$ die Wechselwirkung des protonierten Restes i mit dem Rest j sowie $E_{i,j}^{0,s_j}$ die Wechselwirkung des nicht-protonierten Restes i mit dem Rest j bezeichnen. Die Protonierung (oder Aufladung) eines Restes kann nun sowohl neutrale als auch geladene Zustände anderer protonierbarer Reste beeinflussen. Um die gesamte Freie Energie eines Protonierungszustands zu berechnen, müssen alle möglichen Paar-Wechselwirkungen $E_{i,j}^{s_i,s_j}$ zwischen den Resten ausgerechnet werden. Betrachtet man jetzt einen Protonierungszustand S und protoniert schrittweise $n < N$ der Gruppen, dann gilt jeweils für seine Freie Energie:

$$\begin{aligned}\Delta G_1 &= \Delta G_{1,\text{int}}^{\text{prot}} + \sum_{j>1} (E_{1,j}^{1,0} - E_{1,j}^{0,0}) \\ \Delta G_2 &= \Delta G_{2,\text{int}}^{\text{prot}} + \sum_{j<2} (E_{2,j}^{1,1} - E_{2,j}^{0,1}) + \sum_{2 < j} (E_{2,j}^{1,0} - E_{2,j}^{0,0}) \\ &\vdots \\ \Delta G_n &= \Delta G_{n,\text{int}}^{\text{prot}} + \sum_{j < n} (E_{n,j}^{1,1} - E_{n,j}^{0,1}) + \sum_{n < j} (E_{n,j}^{1,0} - E_{n,j}^{0,0})\end{aligned}$$

Summiert man nun alle Freien Energien bis n Gruppen protoniert sind, erhält man als

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG

Freie Energie des Protonierungszustands S :

$$\Delta G(S) = \sum_{i=1}^n \Delta G_{i,\text{int}}^{\text{prot}} + \sum_{i=1}^n \sum_{j < i} (E_{i,j}^{1,1} - E_{i,j}^{0,1}) + \sum_{i=1}^n \sum_{i < j} (E_{i,j}^{1,0} - E_{i,j}^{0,0}) \quad (9.28)$$

Führt man eine Wechselwirkungsenergie $W_{i,j}$ zwischen den Resten i, j ein, definiert als

$$W_{i,j} = E_{i,j}^{1,1} - E_{i,j}^{1,0} - E_{i,j}^{0,1} + E_{i,j}^{0,0}, \quad (9.29)$$

dann kann obige Formel umgeschrieben werden als Summe über alle Gruppen:

$$\Delta G(S) = \sum_{i=1}^N s_i \Delta G_{i,\text{int}}^{\text{prot}} + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{i \neq j} W_{i,j} s_i s_j + \sum_{i=1}^N \sum_{i \neq j} s_i (E_{i,j}^{1,0} - E_{i,j}^{0,0}). \quad (9.30)$$

Manchmal ist es günstig einen Ladungsvektor $q = (q_1, \dots, q_N)$ statt eines Protonierungsvektors zu verwenden:

$$q_i = s_i - s_i^0, \quad (9.31)$$

mit einem Referenzzustand der Gruppe s_i^0 , welcher 0 für basische und 1 für saure Gruppen ist. Es ist ersichtlich, dass q_i für basische Reste positiv im protonierten Zustand und für saure Reste neutral im protonierten Zustand ist. Oft werden die Anteile von ungeladen Gruppen, d. h. $E_{i,j}^{1,0} - E_{i,j}^{0,0}$, vernachlässigt, womit für die Freie Energie eines Protonierungszustands relativ zum neutralen Zustand folgt:

$$\Delta G(S) - \Delta G(S^0) = \sum_{i=1}^N q_i \Delta G_{i,\text{int}}^{\text{prot}} + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{i \neq j} W_{i,j} q_i q_j. \quad (9.32)$$

Die Beiträge $\Delta G_{i,\text{int}}^{\text{prot}}$ und $W_{i,j}$ können mittels FDPB-Rechnungen (näherungsweise) bestimmt werden. Mit der Zuordnung einer Freien Energie für jeden möglichen Protonierungszustand eines Moleküls lässt sich eine Zustandssumme der Protonierung des Moleküls berechnen:

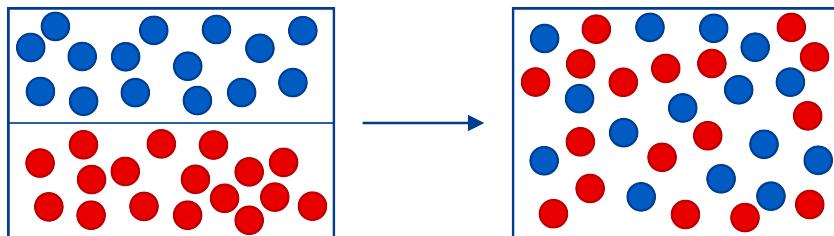
$$Z = \sum_S e^{-\frac{\Delta G(S) - \Delta G(S^0)}{RT}} \quad (9.33)$$

mit dessen Hilfe nun über

$$\bar{A} = \frac{1}{Z} \sum_S A_S e^{-\frac{\Delta G(S) - \Delta G(S^0)}{RT}} \quad (9.34)$$

die Mittelwerte verschiedener Größen bei einem gegebenen pH-Wert berechnet werden können. Für die Berechnung der Zustandssumme müssen alle Wechselwirkungen explizit ausgerechnet werden, was bei einer großen Anzahl von Resten sehr zeitaufwendig werden kann. Man verwendet deshalb in solchen Fällen ein Monte-Carlo-Verfahren, wobei nur die energetisch relevanten Gruppen betrachtet werden. Es ist zu beachten, dass die Beiträge zur Stabilisierung von Protonierungszuständen abhängig von der Konformation des Moleküls sind. Konformationsänderung können deshalb zu einer Änderung des Protonierungszustands führen.

9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG



9.6 Hydrophober Effekt

Bei der Mischung von polaren und unpolaren Molekülen spielen elektrostatische Wechselwirkungen eine stark untergeordnete Rolle. Im Wesentlichen wird das Mischen von einer Konkurrenz zwischen der Änderung der Enthalpie ΔH_{Misch} und der Änderung der Entropie ΔS_{Misch} charakterisiert: die Änderung der Enthalpie ist positiv, da die polaren Moleküle untereinander stärker wechselwirken als mit den unpolaren und somit die Zusammenballung von Teilchen begünstigen, andererseits ist die Änderung der Entropie auch positiv, da durch das vergrößerte Volumen die Anzahl der möglichen Zustände ansteigt. Die treibende Kraft ist schließlich die Mischungsenergie ΔG_{Misch} , die Differenz zwischen der Enthalpie und der Entropie:

$$\Delta G_{\text{Misch}} = \Delta H_{\text{Misch}} - T\Delta S_{\text{Misch}}. \quad (9.35)$$

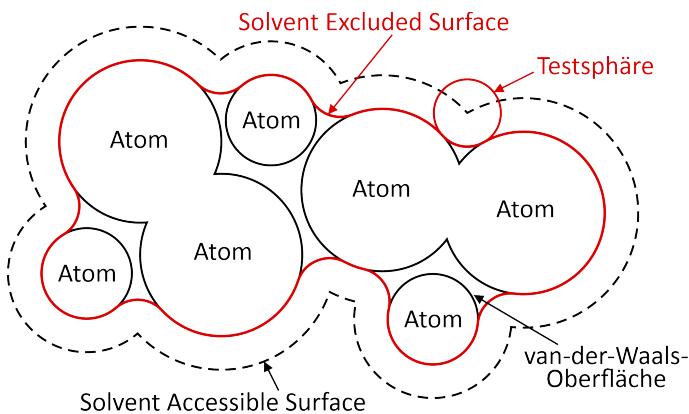
Aus obiger Gleichung erwartet man, dass die Löslichkeit mit der Temperatur zunimmt. Für viele Lösungsvorgänge gilt dieser Zusammenhang auch, doch für Wasser als polares Lösungsmittel ist das allgemein nicht richtig. Betrachtet man z.B. das Lösen von Benzol oder Hexan in Wasser, so fällt auf, dass die Enthalpieänderung nahezu null ist und die Entropieänderung negativ, d. h. die Ordnung des Systems hat nach dem Mischen sogar zugenommen. Das sich unpolare Moleküle in Wasser kaum bis gar nicht mischen, wird als **Hydrophober Effekt** bezeichnet. Dieser Effekt lässt sich erklären, indem angenommen wird, dass unpolare Moleküle in Wasser gelöst eine zusätzliche Ordnung induzieren, also eine Veränderung der Wasserstruktur um die unpolaren Moleküle stattfindet. Diese Strukturänderung ist dabei mit einer vernachlässigbaren Enthalpieänderung der Lösung bei Raumtemperatur verbunden. Da sich keine Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Wasser und den unpolaren Molekülen bilden kann, werden diese durch langlebige H-Bindungen zwischen Wasser und unpolarem Molekül kompensiert.

Um die hydrophoben Beiträge bei der Assoziation von unpolaren Molekülen abzuschätzen, wird das *Oberflächenspannungsmodell* verwendet. Die Grenzfläche zwischen unpolaren Lösungen induziert eine Oberflächenspannung, die minimiert werden soll. Die Oberflächenspannung ist dabei proportional zur *Solvent Accessible Surface Area* (SASA) des Moleküls, der effektiv zugänglichen Fläche für Solvens-Teilchen. Für die Energie des hydrophoben Beitrags zur Gesamtwechselwirkung der Moleküle erhält man dann:

$$\Delta G_{\text{Solvation}}^{\text{unpolar}} = b + \gamma \cdot \text{SASA}, \quad (9.36)$$

wobei γ den Oberflächenspannungskoeffizienten bezeichnet. Dieser Zusammenhang ist rein empirisch, weshalb noch ein Offset b zur besseren Anpassung eingeführt wurde.

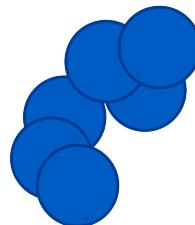
9 WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN BIOMOLEKÜLEN IN LÖSUNG



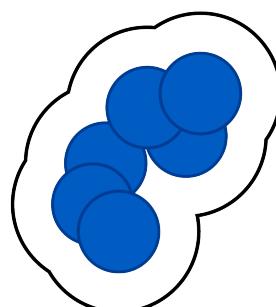
9.7 Übersicht: Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen

Mit dem hydrophoben Effekt sind nun alle wesentlichen Anteile an der Energie von Molekülen in Lösung (im Kontinuum) bekannt. Die Gesamtenergie E_{ges} setzt sich damit zusammen aus:

- der Energie E_{Vakuum} des Moleküls im Vakuum; das sind z. B. die elektrostatische Wechselwirkung, aber auch die van-der-Waals- oder die Polarisationswechselwirkung.

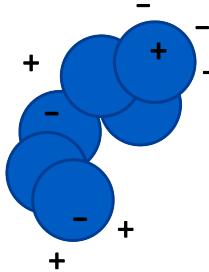


- dem Beitrag der Oberflächenspannung der (unpolaren) Moleküle im Solvens $E_{\text{Solvation}}^{\text{unpolar}}$ hervorgerufen durch die Bildung einer *Cavity* (eines Hohlraums).

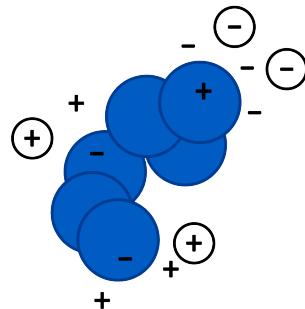


10 STRUKTURBILDUNG VON BIOMOLEKÜLEN

- der Energie $E_{\text{Solvation}}^{\text{polar}}$ des (auf-)geladenen Moleküls im Dielektrikum (dem Solvens), wofür die Poisson-Gleichung (mit dielektrischer Grenze) berechnet wird.



- dem Energiebeitrag $E_{\text{Solvation}}^{\text{Ionen}}$ von im Solvens gelöster Ionen auf die Elektrostatik des Moleküls, d. h. dem Einfluss einer zusätzlichen, diffusen Ionenverteilung. Zur Bestimmung wird die Poisson-Boltzmann-Gleichung gelöst.



10 Strukturbildung von Biomolekülen

Die Strukturbildung von Biomolekülen involviert die Balance einer Vielzahl von energetischen und entropischen Beiträgen: die elektrostatischen Einflüsse favorisieren eher den ungefalteten Zustand, da dort die Ladungen besser dem Solvens zugänglich sind; die van-der-Waals-Wechselwirkung führt zu einer Stabilisierung des gefalteten Zustands, während die Einschränkung der Freiheitsgrade des Moleküls im gefalteten Zustand die Entropie verringert und somit (nach der Entropie-Maximierung) unwahrscheinlicher ist.

10.1 Zwei-Zustands-Modell der Faltung

Es fällt auf, dass Faltung ein Vorgang mit grundsätzlich nur zwei Möglichkeiten für das Molekül ist: entweder es ist gefaltet oder es ist ungefaltet. Die Entfaltung/Faltung eines Moleküls kann durch eine Temperaturänderungen oder durch denaturierende Lösungsmittel beeinflusst werden. Ein einfaches Modell zur Beschreibung von Faltung ist das

10 STRUKTURBILDUNG VON BIOMOLEKÜLEN

Zwei-Zustands-Modell: man unterscheidet nur zwischen einem gefalteten Molekül mit Energie $E = 0$ und einem ungefalteten Molekül mit $E = \Delta E$. Über die Zustandssumme können dann die verschiedenen thermodynamischen Größen berechnet werden. Die Zustandssumme lautet:

$$Z = \sum_i e^{-\frac{E_i}{RT}} = 1 + e^{-\frac{\Delta E}{RT}}, \quad (10.1)$$

woraus für die Energie bei konstantem Druck, der Enthalpie H , folgt:

$$H = RT^2 \frac{\partial \ln(Z)}{\partial T} \Big|_p = \frac{\Delta E e^{-\frac{\Delta E}{RT}}}{1 + e^{-\frac{\Delta E}{RT}}}. \quad (10.2)$$

Aus der Ableitung von H nach der Temperatur folgt die Wärmekapazität bei konstantem Druck:

$$c_p = \frac{\Delta E^2}{RT^2} \frac{e^{-\frac{\Delta E}{RT}}}{(1 + e^{-\frac{\Delta E}{RT}})^2} \quad (10.3)$$

was nach einführen der Wahrscheinlichkeiten $P_{0/1}$ mit

$$P_0 = \frac{1}{1 + e^{-\frac{\Delta E}{RT}}} \quad \text{und} \quad P_1 = \frac{e^{-\frac{\Delta E}{RT}}}{1 + e^{-\frac{\Delta E}{RT}}} \quad (10.4)$$

für den gefalteten und ungefalteten Zustand die Form

$$c_p = \frac{\Delta E^2}{RT^2} P_0 P_1 \quad (10.5)$$

nimmt. Für N verschiedene, iso-energetische ungefaltete Zustände verändert sich die Wärmekapazität zu

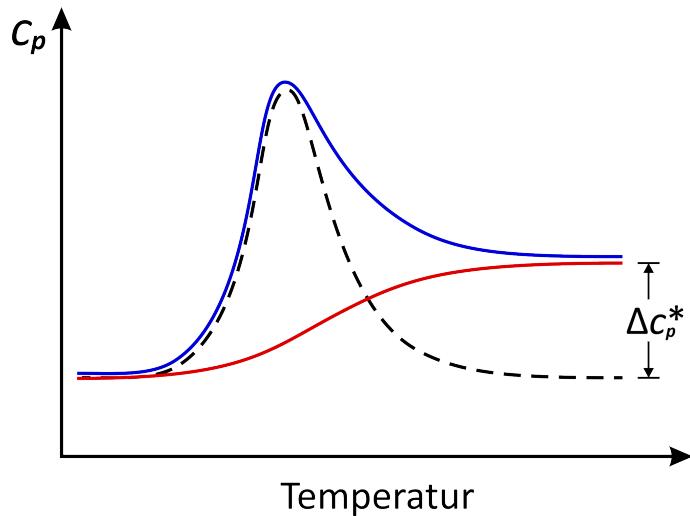
$$c_p = \frac{\Delta E^2}{RT^2} \frac{N e^{-\frac{\Delta E}{RT}}}{(1 + e^{-\frac{\Delta E}{RT}})^N}. \quad (10.6)$$

Mithilfe der Wärmekapazität folgt in linearer Näherung für die Veränderung der Enthalpie und Entropie in Abhängigkeit der Temperatur bezüglich einer Referenztemperatur T_{ref} :

$$H(T) = H(T_{\text{ref}}) + c_p(T - T_{\text{ref}}) \quad (10.7)$$

$$S(T) = S(T_{\text{ref}}) + c_p \ln\left(\frac{T}{T_{\text{ref}}}\right). \quad (10.8)$$

Das Zwei-Zustands-Modell kann näherungsweise den Verlauf der Wärmekapazität c_p wiedergeben, vor allem das Vorhandensein eines Maximums wird beschrieben. Allerdings zeigen experimentelle Messungen, dass die Wärmekapazität für große Temperaturen nicht auf denselben Wert wie für niedrige Temperaturen geht, sondern bei einem um Δc_p^* größeren Wert sättigt.



Um dieses Verhalten zu beschreiben, wird ein zusätzlicher vom Anteil P_1 der ungefalteten Moleküle abhängender Term der Wärmekapazität hinzugefügt:

$$c_p^{\text{korr}} = \frac{\Delta E^2}{RT^2} P_0 P_1 + P_1 \Delta c_p^*. \quad (10.9)$$

Die Zunahme der Wärmekapazität c_p nach der Auffaltung des Moleküls wird häufig durch die Zugänglichkeit unpolarer Gruppen zum Solvens interpretiert (vgl. hydrophober Effekt).

10.2 Modelle für den ungefalteten Zustand

Wie zuvor in der Erhöhung der Wärmekapazität um Δc_p^* gesehen, hat die Struktur des ungefalteten Zustands auch einen Einfluss auf die Faltung des Biomoleküls. Durch Messungen des Gyrationsradius R_G (Größe zur Charakterisierung der räumlichen Ausdehnung nicht-kugelförmiger Partikel) der ungefalteten Moleküle stellt man fest, dass dieser proportional zur Kettenlänge N hoch einem Faktor ν ist:

$$R_G \propto N^\nu. \quad (10.10)$$

Die verschiedenen Werte von ν entsprechen unterschiedlichen Strukturen des ungefalteten Moleküls:

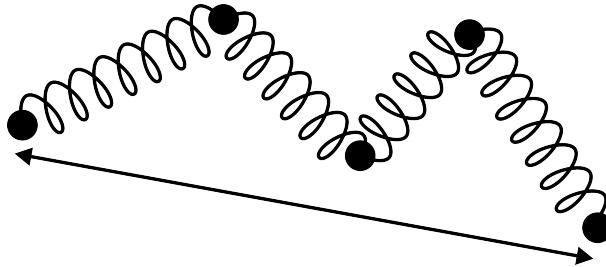
- $\nu > 0.6$: Gutes Lösungsmittel, die Ketten sind ausgedehnt und ungefaltet
- $\nu < 0.5$: Schlechtes Lösungsmittel, die Ketten sind überwiegend kollabiert
- $\nu \approx 0.6$: Theta-Lösungsmittel: Ketten liegen sowohl als ausgedehnte aber auch als kollabierte Zustände vor

10 STRUKTURBILDUNG VON BIOMOLEKÜLEN

Für denaturierte Proteine kann der Faktor ν experimentell zu

$$R_G \propto N^{0.598} \quad (10.11)$$

bestimmt werden.



Ein einfaches Modell für die ausgedehnte Kette ist das *Gaußsche Ketten-Modell*. Man betrachtet das Polymer als viele, durch Hooke'sche Federn verbundene Kettenelemente, wobei der mittlere Abstand zweier Kettenelemente $i - 1$ und i dem Wert b entspricht:

$$\langle \|\vec{r}_i - \vec{r}_{i-1}\|^2 \rangle = b^2. \quad (10.12)$$

Die Wahrscheinlichkeit den Abstand $\Delta\vec{r}_i = \vec{r}_i - \vec{r}_{i-1}$ zwischen zwei Kettenelementen vorzufinden lautet:

$$P(\Delta\vec{r}_i) = \frac{1}{b^3} \sqrt{\frac{27}{8\pi^3}} \exp\left(-\frac{3\|\Delta\vec{r}_i\|^2}{2b^2}\right), \quad (10.13)$$

dieser Ausdruck ist normiert:

$$\int d\Delta\vec{r}_i P(\Delta\vec{r}_i) = 1 \quad (10.14)$$

und das mittlere Quadrat des Abstandes $\Delta\vec{r}_i$ entspricht dem Wert b :

$$\int d\Delta\vec{r}_i \|\Delta\vec{r}_i\|^2 P(\Delta\vec{r}_i) = b^2. \quad (10.15)$$

Für einfache Ketten ist der Erwartungswert des Abstandes vom ersten zum letzten Kettenglied R_{ges} proportional zum Gyrationsradius. Für den Erwartungswert braucht es zuerst die Wahrscheinlichkeit, einen bestimmten Abstand R_{ges} zu erhalten. Sie ist über die Wahrscheinlichkeit der Summe aller Abstände zwischen den Kettenelementen gegeben:

$$P(R_{\text{ges}}) = P\left(\sum_{i=1}^N \Delta\vec{r}_i\right) = \frac{1}{b^3} \sqrt{\frac{27}{8\pi^3 N^3}} \exp\left(-\frac{3R_{\text{ges}}^2}{2Nb^2}\right), \quad (10.16)$$

woraus für den mittleren quadratischen Abstand R_{ges} folgt:

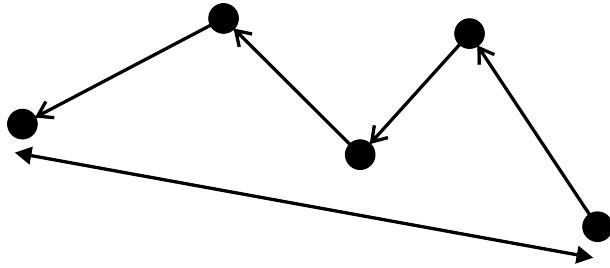
$$\langle R_{\text{ges}}^2 \rangle \propto N \quad (10.17)$$

und abschließend für den Gyrationsradius:

$$R_G \propto R_{\text{ges}} \propto N^{0.5}. \quad (10.18)$$

Das Gaußsche Ketten-Modell sagt also zu kompakte Strukturen vorher.

10 STRUKTURBILDUNG VON BIOMOLEKÜLEN



Ein weiteres, einfaches Modell ist das *Modell der frei beweglichen Kette*. Es ähnelt dem Gaußschen Ketten-Modell mit dem Unterschied, dass die Hookeschen Federn durch starre Verbindungen mit konstanter Länge b ersetzt wurden. Die Winkel zwischen den Kettenelementen sind nach wie vor frei. Der Verbindungsvektor vom ersten zum letzten Kettenglied \vec{R}_{ges} kann als Summe der Verbindungsvektoren der einzelnen Kettenglieder geschrieben werden:

$$\vec{R}_{\text{ges}} = \sum_{i=1}^N \vec{b}_i, \quad (10.19)$$

womit für den mittleren quadratischen Abstand $\|\vec{R}_{\text{ges}}\|^2$ folgt:

$$\begin{aligned} \langle \|\vec{R}_{\text{ges}}\|^2 \rangle &= \left\langle \sum_{i=1}^N \vec{b}_i \cdot \sum_{j=1}^N \vec{b}_j \right\rangle \\ &= \sum_{i=1}^N \|\vec{b}_i\|^2 + \sum_{i \neq j} \langle \vec{b}_i \cdot \vec{b}_j \rangle, \end{aligned} \quad (10.20)$$

was äquivalent zu

$$\langle \|\vec{R}_{\text{ges}}\|^2 \rangle = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \|\vec{b}_i\| \|\vec{b}_j\| \langle \cos(\theta_{ij}) \rangle \quad (10.21)$$

ist. Da die Kettenglieder zueinander unkorreliert sind, also auch die Winkel zwischen ihnen nicht voneinander abhängen, gilt:

$$\langle \cos(\theta_{ij}) \rangle = \delta_{ij}, \quad (10.22)$$

womit eingesetzt in obige Gleichung für $\langle \|\vec{R}_{\text{ges}}\|^2 \rangle$ folgt:

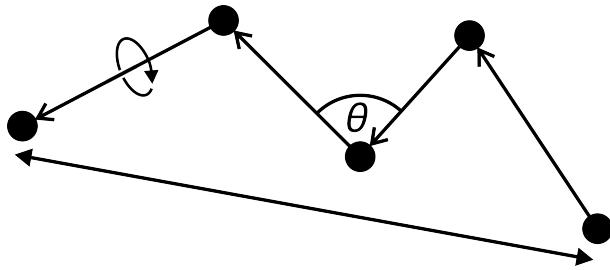
$$\langle \|\vec{R}_{\text{ges}}\|^2 \rangle \propto N \|\vec{b}\|^2 \quad (10.23)$$

und abschließend für den Gyrationsradius:

$$R_G \propto N^{0.5}. \quad (10.24)$$

Das heißt, auch dieses Modell sagt zu kompakte Strukturen vorher.

Eine leichte Abwandlung des vorigen Modells ist das *Porod-Kratky-Ketten-Modell*: die Winkel zwischen den Kettengliedern haben nun den festen Wert θ , dafür ist eine freie



Rotation um die Bindungen mit der fixierten Bindungslänge b möglich. Man kann zeigen, dass für den mittleren quadratischen Abstand $\langle \|\vec{R}_{\text{ges}}\|^2 \rangle$ gilt:

$$\langle \|\vec{R}_{\text{ges}}\|^2 \rangle \propto N \|\vec{b}\|^2 \frac{1 + \cos(\theta)}{1 - \cos(\theta)}, \quad (10.25)$$

woraus wieder für den Gyrationsradius folgt:

$$R_G \propto N^{0.5}. \quad (10.26)$$

Das Modell kann zum *Rotational-Isomeric-State-Modell* (RIS-Modell) erweitert werden. Dafür wird eine Näherung für die nicht-bindenden Interaktionen hinzugefügt: es gibt eine Abstoßung zwischen den Monomeren und nur bestimmte, stabile Dihedralwinkelzustände (Winkel zwischen den Kettengliedern). Nach dem RIS-Modell gilt für den Gyrationradius in Abhängigkeit der Kettenlänge N :

$$R_G \propto N^{0.588}, \quad (10.27)$$

was sehr gut mit den Experimenten übereinstimmt. Der Erfolg des RIS-Modells ist aber kein Beweis dafür, dass denaturierte Proteine als vollständig ungefaltete Kette vorliegen, auch Ketten mit nativen Sekundärstrukturen können die Bedingung $R_G \propto N^{0.588}$ in guter Übereinstimmung erfüllen.

10.3 Bildung von Sekundärstrukturen – Zimm-Bragg-Modell

Die Biomolekülgruppe der Peptide kann auch Strukturbildungsprozesse durchlaufen, indem sie Sekundärstrukturen wie das β -Faltblatt oder die α -Helix ausbildet. Häufig wird auch die Doppelstrangstruktur von DNA und RNA als eine Sekundärstruktur bezeichnet. Die Stabilisierung der Sekundärstrukturen geschieht hauptsächlich durch Wechselwirkungen innerhalb der nächsten Umgebung der chemischen Gruppen. Ist das Protein dann vollständig gefaltet, könnte auch tertiäre Wechselwirkungen zur Stabilisierung der Struktur beitragen.

Ein Modell, welches die Bildung von Sekundärstrukturen (in diesem Fall von Helizes) beschreibt, ist das *Zimm-Bragg-Modell*, auch Reißverschlussmodell genannt. Grundsätzlich unterscheidet man in diesem Modell zwischen Initiation und Propagation. Bezeichnet O eine ungefalteten Abschnitt und h einen als Helix vorliegenden Abschnitt einer

10 STRUKTURBILDUNG VON BIOMOLEKÜLEN

Molekülkette, dann beschreibt s das Gleichgewicht der Propagation (der Fortpflanzung) einer Helix:

$$s = \frac{[000hh000]}{[000h0000]} \quad (10.28)$$

und σ beschreibt das Gleichgewicht der Initiation (der Erzeugung) einer Helix:

$$\sigma s = \frac{[000hh000]}{[0000000]}. \quad (10.29)$$

Mit diesen beiden Kennwerten können beliebig lange, helikale Abschnitten auf eine komplett ungefaltete Kette zurückgeführt werden:

$$[000hh000] = s[000h0000] = s^2[000h00000] = \sigma s^3[000000000] \quad (10.30)$$

bzw. nach Teilen durch den ungefalteten Zustand:

$$\sigma s^3 = \frac{[000hh000]}{[000000000]}. \quad (10.31)$$

Das Propagationsgleichgewicht s ist Boltzmann-Verteilt:

$$s = \exp\left(-\frac{\Delta G_{0 \rightarrow h}}{RT}\right), \quad (10.32)$$

mit der Übergangsenergie eines ungefalteten Zustands zu einer Helix $\Delta G_{0 \rightarrow h}$, womit für die Zustandssumme einer n Elemente langen Kette nach dem Zimm-Bragg-Modell folgt:

$$Z = 1 + \sum_{k=1}^n g_k \sigma s^k, \quad (10.33)$$

wobei g_k die Entartung bzw. die Vielfachheit einer Energie bezeichnet. Bei einer Kette aus n Elementen gibt es

$$g_k = n - k + 1 \quad (10.34)$$

Möglichkeiten ein k langes Kettenstück zu verteilen, womit die Zustandssumme nun explizit geschrieben werden kann als

$$\begin{aligned} Z &= 1 + \sigma \sum_{k=1}^n (n - k + 1) s^k \\ &= 1 + \sigma(n+1) \sum_{k=1}^n s^k - \sigma \sum_{k=1}^n k s^k. \end{aligned} \quad (10.35)$$

Mithilfe der Tatsache, dass

$$\sum_{k=1}^n s^k = \frac{s^{n+1} - s}{s - 1} \quad (10.36)$$

10 STRUKTURBILDUNG VON BIOMOLEKÜLEN

und

$$\sum_{k=1}^n ks^k = s \frac{d}{ds} \sum_{k=1}^n s^k, \quad (10.37)$$

kann die Zustandssumme abschließend ausgewertet werden:

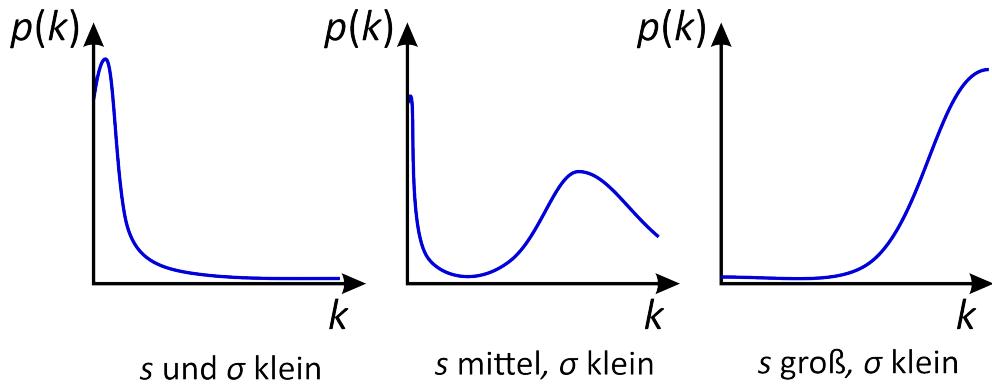
$$Z = 1 + \frac{\sigma s(n+1)(s^n - 1)}{s-1} - \frac{\sigma s(ns^{n+1} - (n+1)s^n + 1)}{(s-1)^2}$$

$Z = 1 + \frac{\sigma s(s^{n+1} - (n+1)s^n + n)}{(s-1)^2}$

(10.38)

Für eine gegebene Kettenlänge n und Gleichgewichten s, σ kann die Wahrscheinlichkeit $p(k)$ von helikalen Strukturen der Länge k in der Kette ausgerechnet werden:

$$p(k) = \frac{(n-k+1)\sigma s^k}{Z}. \quad (10.39)$$



Der Anteil der helikalen Strukturen θ , die Helizität, berechnet sich über den Erwartungswert $\langle k \rangle$ eine Helix mit der Länge k zu finden geteilt durch die Gesamtlänge der Kette n :

$$\theta = \frac{\langle k \rangle}{n}. \quad (10.40)$$

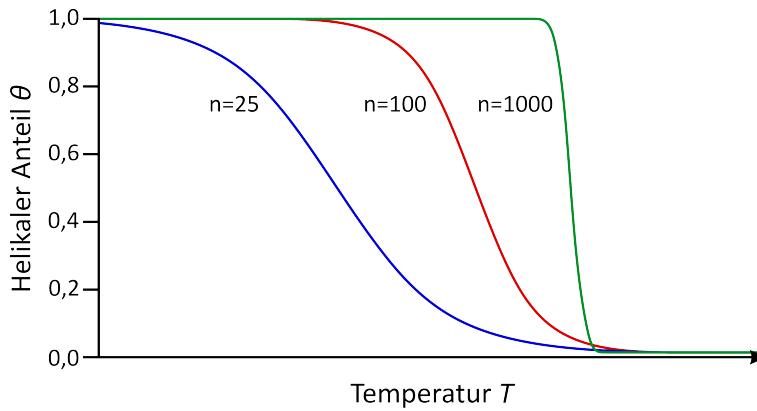
Der Erwartungswert kann über die Formel

$$\langle k \rangle = \sum_{k=1}^n k \cdot p(k) = \sum_{k=1}^n \frac{k(n-k+1)\sigma s^k}{Z} = \frac{s}{Z} \frac{\partial Z}{\partial s} \quad (10.41)$$

bestimmt werden, womit für die Helizität folgt:

$\theta = \frac{\sigma s(s^{n+1} - (n+2)s^{n+1} + (n+2)s - n)}{n(s-1)^3 Z}$

(10.42)



Die Bildung von Helix-Strukturen ist für $\sigma \ll s$ kooperativ. Das Zimm-Bragg-Modell erlaubt bei Kenntnis der Parameter σ und s (und deren Temperaturabhängigkeit) die Berechnung der Thermodynamik der Sekundärstrukturbildung (z.B. von α -Helizes in Proteinen oder DNA-Doppelstrangbildung).

Prinzipiell könne die Parameter σ und s theoretisch z. B. mithilfe von Simulationen bestimmt werden. Experimentell können σ und s aus der Stabilität von Helizes unterschiedlicher Länge erhalten werden. Betrachtet man den Logarithmus der Zustandssumme einer voll-helikalen Struktur (d. h. $k = n$), dann ist diese proportional zu:

$$\ln(Z) \propto \ln(\sigma s^n) = \ln(\sigma) + n \ln(s). \quad (10.43)$$

Die Zustandssumme wiederum ist proportional zur Freien Energie der Helixstruktur, womit für die Energie einer n langen Kette ΔG_n folgt:

$$\Delta G_n = -RT \ln(\sigma) - nRT \ln(s). \quad (10.44)$$

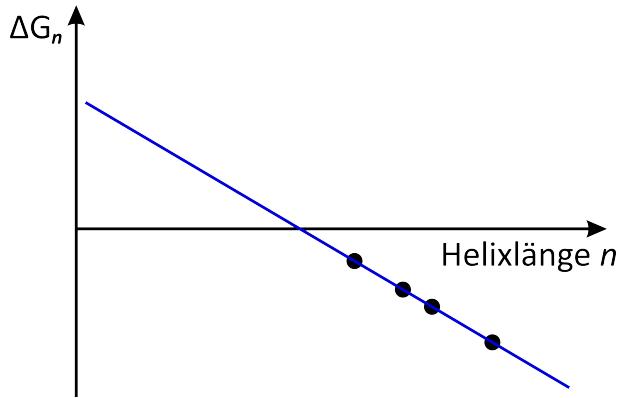
Identifiziert man jetzt noch den ersten Term als Energie der Initiation und den zweiten Term als Energie der Propagation:

$$\Delta G_n = \Delta G^{\text{Initiation}} + n\Delta G^{\text{Propagation}}, \quad (10.45)$$

dann können durch Messen der Energie ΔG_n für verschiedene Helixlängen aus der Steigung und dem y -Achsenabschnitt die entsprechenden Einzelenergien abgelesen werden.

10.4 Transfermatrix-Methode

Ein großer Nachteil des Reißverschlussmodells liegt darin, dass es nur einen Initiationspunkt zulässt. Besonders für längere Peptide ist das nicht realistisch, da dort an multiplen



Punkten helikale Strukturen entstehen können. Man führt deshalb das **Transfermatrix-Modell** ein, wobei beliebig viele helikale Segmente berücksichtigt werden. Die Wahrscheinlichkeit m helikale Ketten mit Länge k zu finden lautet dann:

$$p(m, k) = \frac{g(m, k)\sigma^m s^k}{Z}, \quad (10.46)$$

mit der Vielfachheit $g(m, k)$ und der Zustandssumme

$$Z = \sum_m \sum_k g(m, k)\sigma^m s^k. \quad (10.47)$$

Für $N = 1$ gibt es entweder nur den Zustand 0 mit der Gleichgewichtskonstante 1 oder eine Helix h mit der Gleichgewichtskonstante σs , sodass für die Zustandssumme gilt:

$$Z_1 = 1 + \sigma s. \quad (10.48)$$

Bei zwei Kettengliedern gibt es schon vier Kombinationen:

Sequenz	00	0h	h0	hh
Gleichgewichtskonstante	1	σs	σs	σs^2

weshalb die Zustandssumme die Form:

$$Z_2 = 1 + 2\sigma s + \sigma s^2 \quad (10.49)$$

nimmt. Für eine größere Anzahl an Kettenelementen kann dieser Prozess einfach fortgesetzt werden, d. h. man ordnet bei einem Trimer den acht Kombinationen oder bei einem Tetramer den 16 Kombinationen etc. die entsprechenden Gleichgewichtskonstanten zu und summiert diese dann. Für immer größer werdende Ketten steigt der Aufwand schnell an, weshalb man eine Transfermatrix M einführt:

$$M = \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix}. \quad (10.50)$$

10 STRUKTURBILDUNG VON BIOMOLEKÜLEN

Mit ihrer Hilfe kann die Zustandssumme als eine Matrixmultiplikation dargestellt werden, z. B. für $N = 1$:

$$Z_1 = \begin{pmatrix} 1 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} = 1 + \sigma s \quad (10.51)$$

oder für $N = 2$:

$$Z_2 = \begin{pmatrix} 1 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix} = 1 + 2\sigma s + \sigma s^2 \quad (10.52)$$

bzw. allgemein für N Kettenglieder (z. B. bei einem Peptid die Aminosäuren):

$$Z = \begin{pmatrix} 1 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix}^N \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ \vdots \\ 1 \end{pmatrix}. \quad (10.53)$$

Für große N ist es einfacher, die Matrix M zuerst zu diagonalisieren:

$$M = T \Lambda T^{-1}, \quad (10.54)$$

mit der Transformationsmatrix T und der Diagonalmatrix

$$\Lambda = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 \\ 0 & \lambda_2 \end{pmatrix} \quad (10.55)$$

mit den Eigenwerten $\lambda_{1/2}$ von M . Die Zustandssumme kann damit ungeschrieben werden zu:

$$Z = \begin{pmatrix} 1 & 0 \end{pmatrix} T \Lambda^N T^{-1} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ \vdots \\ 1 \end{pmatrix}, \quad (10.56)$$

wobei aufgrund der Eigenschaften von Diagonalmatrizen für Λ^N gilt:

$$\Lambda^N = \begin{pmatrix} \lambda_1^N & 0 \\ 0 & \lambda_2^N \end{pmatrix}. \quad (10.57)$$

Berechnet man nun die Nullstellen des charakteristischen Polynoms von M :

$$\chi_M = \det(M - \lambda I_2) = (1 - \lambda)(s - \lambda) - \sigma s, \quad (10.58)$$

erhält man als Eigenwerte:

$$\lambda_{1/2} = \frac{(1 + s) \pm \sqrt{(1 - s)^2 + 4\sigma s}}{2}. \quad (10.59)$$

Für die Transformationsmatrizen können damit Ausdrücke in Abhängigkeit der Eigenwerte bestimmt werden:

$$T = \begin{pmatrix} 1 - \lambda_2 & 1 - \lambda_1 \\ 1 & 1 \end{pmatrix} \quad (10.60)$$

$$T^{-1} = \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \begin{pmatrix} 1 & \lambda_1 - 1 \\ -1 & 1 - \lambda_2 \end{pmatrix}, \quad (10.61)$$

womit abschließend als Ausdruck für die Zustandssumme folgt:

$$Z = \frac{\lambda_1^{N+1}(1 - \lambda_2) - \lambda_2^{N+1}(1 - \lambda_1)}{\lambda_1 - \lambda_2}. \quad (10.62)$$

Der Eigenwert λ_1 ist größer als λ_2 , d.h. für große N gilt:

$$\lambda_1^{N+1} \gg \lambda_2^{N+1} \quad (10.63)$$

und damit für die Zustandssumme:

$$Z \approx \frac{\lambda_1^{N+1}(1 - \lambda_2)}{\lambda_1 - \lambda_2} \approx \lambda_1^N. \quad (10.64)$$

Analog zum vorigen Modell gilt für die Helizität θ :

$$\theta = \frac{\langle k \rangle}{N}, \quad (10.65)$$

womit folgt:

$$\theta = \frac{s}{NZ} \frac{\partial Z}{\partial s} = \frac{s}{\lambda_1} \frac{\partial \lambda_1}{\partial s} = \left[\frac{s}{2\lambda_1} \left(1 + \frac{s-1+2\sigma}{\sqrt{(s-1)^2 + 4\sigma s}} \right) \right] \quad (10.66)$$

Für kleine σ ist das Modell stark kooperativ, die Helizität (in Abhängigkeit von s) besitzt einen Wendepunkt mit großer Steigung. Für $\sigma = 1$ nimmt die Helizität die Form

$$\theta = \frac{s}{1+s} \quad (10.67)$$

an, was gerade der Helizität des Helix-Knäuel-Übergangs von Kapitel 1.9 entspricht. Möchte man die mittlere Anzahl $\langle m \rangle$ der Helizes entlang der Kette wissen, so kann diese über:

$$\langle m \rangle = \frac{\sigma}{Z} \frac{\partial Z}{\partial \sigma} = \frac{N\sigma}{\lambda_1} \frac{\partial \lambda_1}{\partial \sigma} = \frac{N}{\lambda_1} \frac{\sigma s}{\sqrt{(s-1)^2 + 4\sigma s}} \quad (10.68)$$

berechnet werden.

11 Simulationsmethoden in der Biophysik

11.1 Monte-Carlo-Simulationen

Häufig treten bei Computersimulationen in der Biophysik eine große Anzahl an möglichen Zuständen oder Wegen auf, die selten oder nur unter großem Aufwand alle betrachtet werden können. Bei einer **Monte-Carlo-Simulation** werden mögliche Zustände

11 SIMULATIONSMETHODEN IN DER BIOPHYSIK

eines Systems zufällig generiert. Der neue generierte Zustand hängt dabei meistens nur vom vorhergehenden Zustand ab (eine solche Abfolge von Zuständen nennt man dann *Markow-Kette*). In den meisten Monte-Carlo-Simulationen ist die Annahmebedingung eines neuen Zustands (also ob der Zustand akzeptiert wird oder nicht) eine Funktion der Energiedifferenz zwischen ursprünglichem und neuen Zustand. Sind die beiden möglichen Zustände i und j eines Systems (mit N möglichen Zuständen) gegeben, so lautet die Gleichung für die Änderungsrate der Wahrscheinlichkeit P_i den Zustand i vorzufinden:

$$\frac{dP_i}{dt} = \sum_{i=1}^N (-w_{ij}P_i + w_{ji}P_j), \quad (11.1)$$

wobei P_j die Wahrscheinlichkeit den Zustand j zu finden und w_{ij} die Übergangswahrscheinlichkeit von Zustand i zum Zustand j im Zeitintervall dt bezeichnet. Bei Monte-Carlo-Simulationen soll im speziellen ein Gleichgewichtszustand gefunden bzw. simuliert werden; bei einem Gleichgewicht ist die Änderung der Wahrscheinlichkeiten null:

$$\frac{dP_i}{dt} = 0. \quad (11.2)$$

Nimmt man zusätzlich noch ein *detailliertes Gleichgewicht* an, d. h. jeder Zustand i ist im Gleichgewicht mit jedem Zustand j , dann muss für jedes Paar i, j gelten:

$$(-w_{ij}P_i + w_{ji}P_j) = 0 \quad (11.3)$$

und nach etwas umformen:

$$\boxed{\frac{P_i}{P_j} = \frac{w_{ji}}{w_{ij}}} \quad (11.4)$$

Im kanonischen Ensemble ist die Wahrscheinlichkeit P_i eines Zustands i von seiner Energie E_i abhängig (sie ist Boltzmann-Verteilt):

$$P_i \propto \exp\left(-\frac{E_i}{k_B T}\right). \quad (11.5)$$

Über die Bedingung für ein detailliertes Gleichgewicht folgt für das Verhältnis zwischen zwei Zuständen i, j :

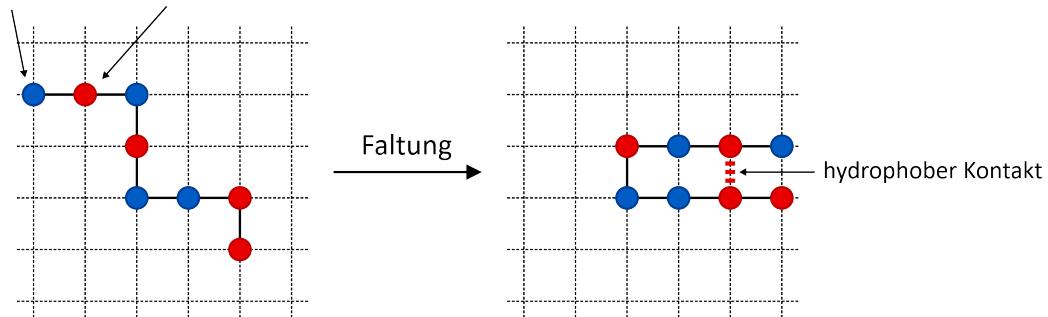
$$\boxed{\frac{P_i}{P_j} = \frac{\exp\left(-\frac{E_i}{k_B T}\right)}{\exp\left(-\frac{E_j}{k_B T}\right)} = \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right)} \quad (11.6)$$

mit $\Delta E = E_i - E_j$. Bei Monte-Carlo-Simulationen im kanonischen Ensemble (dann *Metropolis-Algorithmus* genannt) wird ein neugenerierter Zustand immer akzeptiert, falls seine Energie geringer als die des vorigen Zustandes ist, sonst wird er mit der Wahrscheinlichkeit $\exp\left(-\frac{\Delta E_{ij}}{k_B T}\right)$ akzeptiert:

$$\boxed{w_{ji} = \begin{cases} 1 & \Delta E_{ij} \leq 0 \\ \exp\left(-\frac{\Delta E_{ij}}{k_B T}\right) & \Delta E_{ij} > 0 \end{cases}} \quad (11.7)$$

11.2 Gittermodelle von Proteinen

hydrophile und hydrophobe Partikel



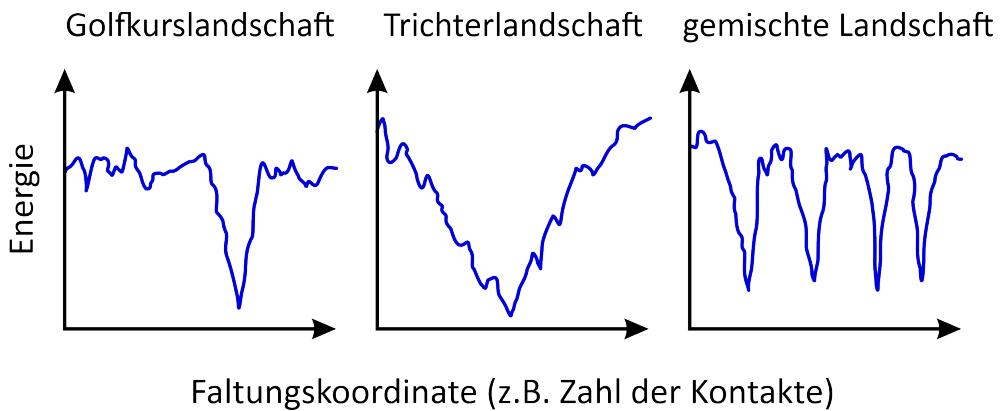
Bei einem Gittermodell wird jede Aminosäure eines Polypeptids durch einen Partikel (in manchen Fällen auch durch mehrere) repräsentiert. Die Partikel werden auf einem Gitter platziert und die Bindungen entlang der Peptidkette werden als Verbindung zwischen benachbarten Partikeln repräsentiert. Der Kette kann dann eine Energiefunktion zugewiesen werden, die in vielen Fällen eine einfache Kontaktfunktion ist, d. h. den hydrophoben bzw. hydrophilen Kontakten werden vorgegebene Werte zugeordnet (z. B. einen favorisierenden oder nicht-favorisierenden Wert). Das Gitter muss nicht einfach-kubisch sein, sondern kann andere Formen annehmen, um die Genauigkeit des Modells zu verbessern.

Um damit nun die Faltung von Proteinen zu verstehen, wird die Energiefunktion optimiert. Für einfache (nicht zu lange) Ketten können alle Konfigurationen der Polypeptide auf dem Gitter abgesucht werden, man erhält dann eine Energielandschaft als Funktion der Sequenz bzw. der Reaktionskoordinaten. Für große Moleküle können selbst bei einfachen Gitter nicht alle Konfigurationen abgesucht werden, dort werden deshalb Monte-Carlo-Simulationen verwendet, bei denen eine neue Konfiguration durch endlich viele Schritte aus der ursprünglichen Konfiguration generiert wird und entsprechend seiner Energie angenommen oder verworfen wird. Häufig ähnelt dann die Bewegung des Proteins auf dem Gitter einem *selbstmeidenden Pfad*, da üblicherweise nur ein Partikel pro Gitterplatz erlaubt ist. Die verschiedenen Kettensequenzen ergeben dann verschiedene Energielandschaften der Faltung, wobei aus der mittleren Anzahl der Monte-Carlo-Simulationsschritte zum gefalteten Zustand Rückschlüsse auf die Faltungszeit gezogen werden können.

Aus den Gitter-Simulationen können allgemein mehrere Eigenschaften der Faltung gewonnen werden. Zuallererst kann das Verhalten der Sequenzen durch zwei Temperaturen charakterisiert werden: der Faltungstemperatur T_{Faltung} , die proportional zur mittlere Energie E_{Faltung} der gefalteten gegenüber der ungefalteten Ketten ist:

$$T_{\text{Faltung}} \propto \frac{E_{\text{Faltung}}}{R} \quad (11.8)$$

und einer Glastemperatur T_{Glas} , welche proportional zur mittleren Energie E_{Glas} der



auftretenden Barrieren (Aktivierungsenergie) ist:

$$T_{\text{Glas}} \propto \frac{E_{\text{Glas}}}{R}. \quad (11.9)$$

Wenn für die betrachtete Simulationstemperatur $T < T_{\text{Glas}}$ gilt, ist die mittlere thermische Energie zu klein, um effektiv die auftretenden Barrieren zu überwinden. Auch gilt weiter, dass für $T_{\text{Faltung}} < T_{\text{Glas}}$ keine effiziente Faltung existiert und im Falle $T_{\text{Faltung}} > T_{\text{Glas}}$ effiziente Faltung nur für $T_{\text{Faltung}} > T > T_{\text{Glas}}$ auftritt. Zweitens kann insbesondere dann effiziente Faltung erreicht werden, wenn Zwischenschritte der Faltung bereits native Kontakte und möglichst keine nicht-nativen Kontakte involviert.

11.3 Simulation der Moleküldynamik

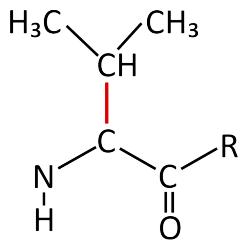
Die Simulation der Dynamik von Molekülen bei atomarer Auflösung wird häufig als *Molekülmechanik* bezeichnet. Man betrachtet dabei die Bewegung der Atome als die dominanten Koordinaten und vernachlässigt die Elektronenkoordinaten (Born-Oppenheimer-Näherung; Atome fühlen nur eine mittlere Elektronenverteilung). Die Dynamik des Systems kann damit über ein Wechselwirkungspotential $V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n)$ der Atomkerne bei den Positionen $\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_n$ beschrieben werden, die mittlere Elektronenverteilung ist in der effektiven Wechselwirkungen der Kerne bereits berücksichtigt. Das Potential wird in diesem Kontext auch als *Molekülmechanik-Kraftfeld* bezeichnet. Die Energie eines Moleküls wird im Wesentlichen von vier Termen beeinflusst:

- der ersten Term beschreibt die Energie E_{Bindung} der chemischen Bindungen (es können keine Bindungen entstehen oder sich lösen), wobei die Bindungslänge b_i um einen für die Bindungsstelle idealen Wert $b_{0,i}$ fluktuiert. Die Bindung kann

11 SIMULATIONSMETHODEN IN DER BIOPHYSIK

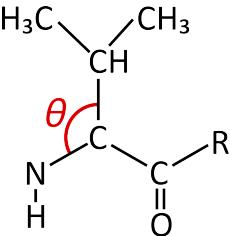
dann wie eine Feder modelliert werden:

$$E_{\text{Bindung}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{Bindung}}} \frac{k_{b_i}}{2} (b_i - b_{0,i})^2$$



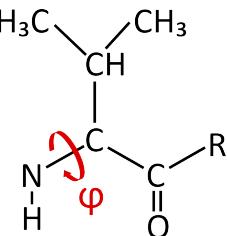
- als nächstes müssen die Fluktuationen der Winkel θ_i zwischen zwei Bindungen um einen entsprechenden Gleichgewichtswinkel $\theta_{0,i}$ beachtet werden. Auch hier wird die Energie durch eine (Dreh)feder beschrieben:

$$E_{\text{Winkel}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{Winkel}}} \frac{\kappa_{\theta_i}}{2} (\theta_i - \theta_{0,i})^2$$



- der dritte Term beschreibt den Freiheitsgrad der Torsion um die einzelnen Bindungen. Üblicherweise wird das Potential als eine Fourier-Reihe (einer Überlagerung von Winkelfunktionen) dargestellt (n Periodizität, δ_i Phase):

$$E_{\text{Torsion}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{Torsion}}} \sum_n A_{i,n} (1 + \cos(n\varphi_i - \delta_i))$$



- der letzte Term röhrt von den nicht-bindenden Wechselwirkungen wie der Coulomb-Anziehung oder den Dispersionswechselwirkungen her. Sie wird meist über die Summe eines Lennard-Jones- und eines Coulomb-Potentials berechnet:

$$E_{\text{Ungebunden}} = \sum_{i < j} \left(\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi \varepsilon_0 r_{ij}} \right)$$

Das Kraftfeld hat dann die Form:

$$V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n) = E_{\text{Bindung}} + E_{\text{Winkel}} + E_{\text{Torsion}} + E_{\text{Ungebunden}}. \quad (11.10)$$

Da hier die Atome als klassische Teilchen betrachtet werden, reicht es für die Berechnung der Moleküldynamik aus, die Atome als punktförmige Masseteilchen zu beschreiben. Aus

11 SIMULATIONSMETHODEN IN DER BIOPHYSIK

dem Potential kann durch einfaches Ableiten die Kraft $\vec{F}(\vec{r}_i)$ an einem Ort \vec{r}_i berechnet werden:

$$\vec{F}(\vec{r}_i) = -\vec{\nabla}_{\vec{r}_i} V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n), \quad (11.11)$$

womit man dann die Bewegungen der Atome durch das (numerische) Lösen der Newtonschen Bewegungsgleichungen erhalten kann:

$$\vec{F}(\vec{r}_i) = m_i \vec{a}(\vec{r}_i). \quad (11.12)$$

Es existieren verschiedene Algorithmen und Methoden, um diese Bewegungsgleichungen numerisch zu lösen. Ein in der Praxis häufig verwendeter Lösungsansatz ist der **Verlet-Algoritmus**. Bei dieser Methode wird die Position $\vec{r}(t)$ des Atoms einmal vorwärts ($t + \Delta t$) und einmal rückwärts ($t - \Delta t$) in der Zeit entwickelt:

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \vec{v}(t)\Delta t + \frac{1}{2}\vec{a}(t)\Delta t^2 + \frac{1}{6}\vec{b}\Delta t^3 + \mathcal{O}(\Delta t^4) \quad (11.13)$$

$$\vec{r}(t - \Delta t) = \vec{r}(t) - \vec{v}(t)\Delta t + \frac{1}{2}\vec{a}(t)\Delta t^2 - \frac{1}{6}\vec{b}\Delta t^3 + \mathcal{O}(\Delta t^4) \quad (11.14)$$

und dann jeweils addiert, um die Geschwindigkeit (bzw. höhere ungerade Terme) zu eliminieren:

$$\boxed{\vec{r}(t + \Delta t) = 2\vec{r}(t) - \vec{r}(t - \Delta t) + \vec{a}(t)\Delta t^2 + \mathcal{O}(\Delta t^4)} \quad (11.15)$$

Mit dieser Vorschrift können aus zwei Anfangspositionen alle nachfolgenden iterativ gefunden werden.

Offensichtlich können nicht unendlich viele Atome simuliert werden, vor allem bei der Berücksichtigung einer wässrigen Umgebung ist das ein Problem. Platziert man das Molekül und die Umgebung in einer Box, so sind die Wechselwirkungen am Rand anders als in der Mitte der Box. Um diese *Randeffekte* zu reduzieren, werden in Moleküldynamik-Simulationen oft periodische Randbedingungen verwendet: läuft während eines Simulationsschrittes ein Teilchen aus der Box hinaus, so läuft es auf der anderen Seite der Box wieder hinein.

Ein weiteres Problem liegt in den gewählten Zeitschritten der Moleküldynamik-Simulation. Die Länge und Anzahl der Zeitschritte bestimmt maßgeblich die Simulationszeit; da sich die Kräfte auf ein Teilchen während eines Zeitschrittes nur wenig ändern sollen (ansonsten sinkt die Genauigkeit der berechneten Trajektorie erheblich), müssen die Schritte kurz gewählt werden. Durch zu lange Zeitschritte kann die Simulationen einen chaotischen Verlauf nehmen, Energie- und Impulserhaltung sind dann auch nicht mehr gegeben. Üblicherweise liegt ein Zeitschritt bei einer Länge von $0.5 - 2 \text{ fs}$ (10^{-15} s), um also auf die momentanen Simulationszeiten für Peptide und kleine Proteine von $1 - 100 \mu\text{s}$ zu kommen, müssen Milliarden von Simulationsschritten durchgeführt werden. Das begrenzt die möglichen Simulationszeiten stark.

11.4 Strukturmodellierung

Moleküldynamik-Simulationen können auch dazu genutzt werden, Strukturdaten von Molekülen basierend auf den experimentellen Befunden zu erzeugen. Häufig wird dazu das Kraftfeld um zusätzliche Faktoren oder Nebenbedingungen ergänzt, z. B.:

$$V(\vec{r}_i, \vec{r}_j) = \begin{cases} \frac{k}{2}(b_{ij} - b_{ij,\text{low}})^2 & b_{ij} < b_{ij,\text{low}} \\ 0 & b_{ij,\text{up}} \geq b_{ij} \geq b_{ij,\text{low}} \\ \frac{k}{2}(b_{ij} - b_{ij,\text{up}})^2 & b_{ij} > b_{ij,\text{up}} \end{cases} \quad (11.16)$$

also in diesem Fall einem quasi-idealen Bereich der Bindungslänge. Man startet bei der Struktursimulation bei einer Startstruktur, einer zufälligen Kettenstruktur, und fügt sequenziell zunächst lokale, dann auch globale, entlang der Sequenz geltende Nebenbedingungen zum Moleküldynamik-Kraftfeld hinzu und versucht somit das Faltungsverhalten eines Polypeptids zu verstehen.

11.5 Thermodynamische Integration

Möchte man die Änderung der Freien Energie beim Übergang eines Zustandes A zu einem neuen Zustand B (z. B. das Annähern eines Liganden an einen Rezeptor) berechnen, reicht es nicht aus, allein die potentiellen Energien der einzelnen Zustände zu kennen, da diese in der Regel unterschiedlich von den betrachteten Phasenraumkoordinaten $\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N$ abhängen, man also nicht einfach die „Distanz“ zwischen den Zuständen verändern. Grundsätzlich kann man aber eine Änderung der Freie Energie $\Delta G(\lambda)$ entlang des Übergangs, dem Reaktionspfad λ , definieren:

$$\Delta G(\lambda) = -RT \ln(Z(\lambda)) = -RT \ln\left(\frac{1}{N!h^{3N}} \int d^N \vec{r} e^{-\beta \varepsilon(\vec{r}, \lambda)}\right), \quad (11.17)$$

mit der zum Pfad und den Phasenraumkoordinaten assoziierten Energie $\varepsilon(\vec{r}, \lambda)$, und von dort aus weiter rechnen. Die Ableitung von $\Delta G(\lambda)$ nach dem Reaktionsweg lautet:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \Delta G}{\partial \lambda} &= -RT \frac{\partial \ln(Z)}{\partial \lambda} \\ &= \frac{1}{\beta Z} \int d^N \vec{r} \beta \frac{\partial \varepsilon(\vec{r}, \lambda)}{\partial \lambda} e^{-\beta \varepsilon(\vec{r}, \lambda)} \\ &= \left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle, \end{aligned} \quad (11.18)$$

die erste Ableitung von ΔG nach λ entspricht also dem Ensemble-Mittelwert der Ableitung der Energiefunktion nach dem Reaktionspfad. Während eines kleinen Stücks des Reaktionsweges ändert sich die Freie Energie gemäß

$$d(\Delta G) = \frac{\partial \Delta G}{\partial \lambda} d\lambda = \left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle d\lambda, \quad (11.19)$$

11 SIMULATIONSMETHODEN IN DER BIOPHYSIK

das heißt, dass ΔG durch integral von $\left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle$ entlang des gesamten Reaktionspfades gewonnen werden kann:

$$\boxed{\Delta G = \int_{\lambda_{\text{Start}}}^{\lambda_{\text{Ende}}} d\lambda \left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle} \quad (11.20)$$

Wie aber findet und integriert man $\left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle$? Wie bereits festgestellt, ist es möglich, die Bewegung eines Moleküls durch zusätzliche Terme im Moleküldynamik-Kraftfeld zu kontrollieren (z. B. die Distanz zwischen Ligand und Rezeptor durch eine zusätzliche Bindung). D. h. man kann einfach dem Kraftfeld einen Energieterm z. B.

$$\varepsilon(\lambda) = \frac{k}{2}(\lambda - \lambda_{\text{Referenz}})^2 \quad (11.21)$$

hinzufügen, welcher dafür sorgt, dass Ligand und Rezeptor nah bei einem Referenzabstand bleiben. Die Ableitung nach dem Reaktionspfad kann dann leicht berechnet:

$$\frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} = k(\lambda - \lambda_{\text{Referenz}}), \quad (11.22)$$

und mit dessen Hilfe auch der Ensemblemittelwert $\left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle$ als einfacher Mittelwert aus einer Moleküldynamik- (oder Monte-Carlo-)Simulation ermittelt werden. Für die Integration werden die Ensemble-Mittelwerte üblicherweise an diskreten Stützstellen der Reaktionskoordinate ermittelt:

$$\left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle \Big|_{\lambda_{\text{Referenz}} = \lambda_{\text{Start}}, \lambda_1, \dots, \lambda_{\text{Ende}}} . \quad (11.23)$$

Aus der so erhaltenen Serie von Ensemble-Mittelwerten:

$$\left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle_{1, 2, \dots, N} \quad (11.24)$$

kann die gesamte Freie Energiedifferenz ΔG durch numerische Integration oder Summation berechnet werden:

$$\Delta G_{\lambda_{\text{Start}} \rightarrow \lambda_{\text{Ende}}} = \sum_{i=1}^N \Delta \lambda_i \cdot \left\langle \frac{\partial \varepsilon(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle_i . \quad (11.25)$$

11.6 Stochastische Simulationen / Brownsche-Dynamik-Simulationen

Das Ziel der *Brownschen-Dynamik-Simulation* liegt nicht wie zuvor in der atomar aufgelösten Simulationen von Faltungs- oder Bewegungsprozessen, sondern in der Analyse von länger dauernden Diffusions- oder allgemein Transportprozessen. Während eines Zeitschritts der Brownsche-Dynamik-Simulation kann das betrachtete Biomolekül mit vielen Wassermolekülen kollidieren und somit viele (zufällig gerichtete) Änderungen der Geschwindigkeit und Bewegungsrichtung erfahren. Das Solvens hat also zweierlei Effekte auf die Dynamik des Biomoleküls:

11 SIMULATIONSMETHODEN IN DER BIOPHYSIK

- eine zufällige Verschiebung und Umorientierung des Biomoleküls
- eine Dämpfung der Bewegung (durch die Viskosität)

Beide Effekte sind durch das Fluktuations-Dissipations-Theorem (Zusammenhang zwischen spontanen Schwankungen eines System im Gleichgewicht und der Reaktion des Systems auf externe Störungen) gekoppelt. Wichtig ist, dass diese Effekte bei einer Brownsche-Dynamik-Simulation nicht explizit berücksichtigt werden; es werden keine Wassermoleküle bei der Simulation betrachtet. Analytisch ist die Wahrscheinlichkeit $P(x, \Delta t)$ ein diffundierendes Teilchen im Abstand x vom Ursprung zu finden über

$$P(x, \Delta t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi D\Delta t}} \exp\left(-\frac{x^2}{4D\Delta t}\right) \quad (11.26)$$

gegeben. D bezeichnet den Diffusionskoeffizienten und lautet explizit für sphärische Teilchen mit Radius a in Medien mit der Viskosität η :

$$D_{\text{Sphäre}} = \frac{k_B T}{6\pi a \eta}. \quad (11.27)$$

Für die Simulation wird dann eine Gauß-verteilte Zufallszahl R generiert mit den Eigenschaften:

$$\langle R \rangle = 0 \quad \text{und} \quad \langle R^2 \rangle = 2D\Delta t. \quad (11.28)$$

Häufiges Wiederholen dieses Schrittes erzeugt gerade eine Zufallsverteilung wie (11.26). Auf das betrachtete Teilchen können Kräfte F wirken und zu einer konstanten Geschwindigkeit führen:

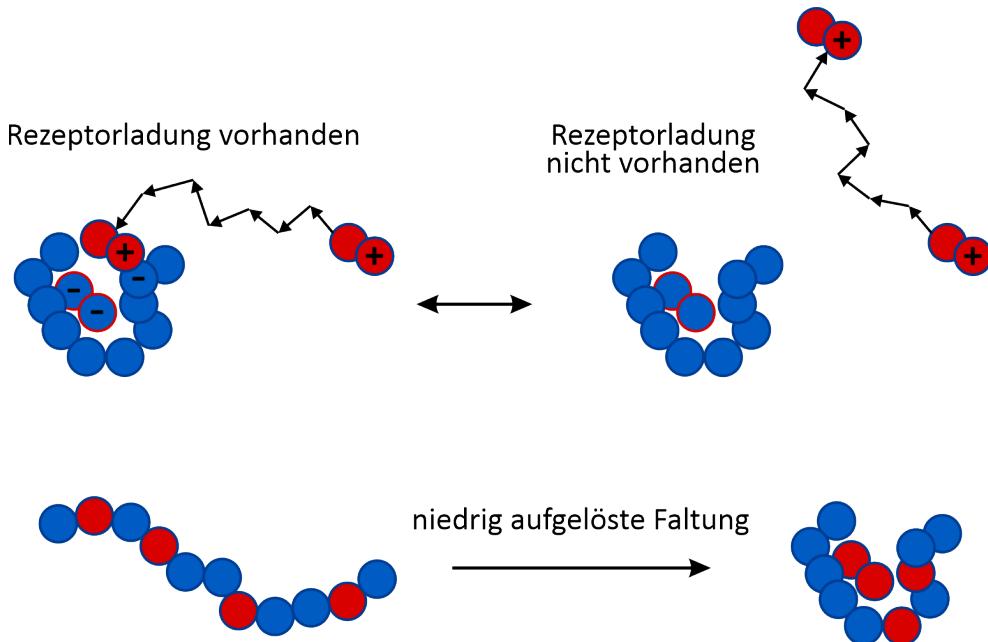
$$v = \frac{D_{\text{Sphäre}} F}{k_B T}. \quad (11.29)$$

Dass es hier ungleich der Moleküldynamik nicht zu einer Beschleunigung des Teilchens unter der Krafteinwirkung kommt, liegt an dem betrachteten Zeitregime: die Bewegung des Teilchens ist bereits durch die Viskosität überdämpft. Die neue Position x_{neu} eines diffundierenden Teilchens nach einem Zeitschritt Δt ist dann über

$$x_{\text{neu}} = x_{\text{alt}} + \frac{D_{\text{Sphäre}} F \Delta t}{k_B T} + R(\Delta t) \quad (11.30)$$

gegeben. Im Falle mehrerer Partikel können auch die Kräfte zwischen den Partikeln berücksichtigt werden. Um hydrodynamische Wechselwirkungen miteinzubeziehen kann anstelle einer Diffusionskonstante ein Diffusionstensor verwendet werden. Brownsche-Dynamik-Simulationen werden meist in Kombination mit vergrößerten Biomolekül-Modellen werden z. B. beim Mechanismus der Assoziation oder dem *Low Resolution Folding*.

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE



12 Assoziation von Biomolekülen und Reaktionsnetzwerke

12.1 Assoziation von Biomolekülen

Betrachtet man zwei Moleküle A und B, so können diese miteinander assoziieren, sich also zu einem Komplex AB zusammenlagern:



Üblicherweise bilden die Partnermoleküle beim Aufeinandertreffen nicht sofort einen spezifischen Komplex AB_f , sondern einen Zwischenzustand AB_e (Encounter-Komplex). Dieser Encounter-Komplex geht (unter Vernachlässigung der Rückreaktion) schließlich in den finalen Komplex über:



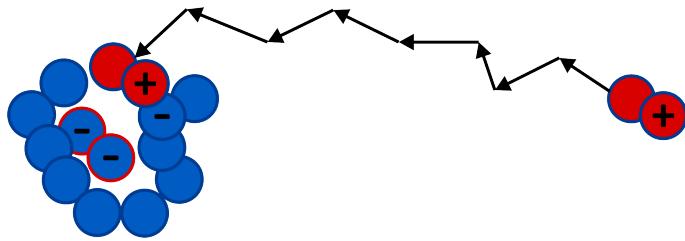
Für die zeitliche Änderung der Konzentration der Encounter-Komplexe gilt:

$$\frac{d[AB_e]}{dt} = k_d[A][B] - k'_d[AB_e] - k_a[AB_e], \quad (12.1)$$

mit einer Bildungs- bzw. Rückbildungsgeschwindigkeit $k_d^{(t)}$ des Encounter-Komplexes und einer Bildungsgeschwindigkeit k_a des finalen Komplexes. Im Fließgleichgewicht kann die Konzentration der Encounter-Komplexe als konstant angenommen werden, womit obige Gleichung nach $[AB_e]$ aufgelöst werden kann:

$$[AB_e] = \frac{k_d[A][B]}{k_a + k'_d}. \quad (12.2)$$

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE



Für die Konzentrationsänderung der finalen Komplexe gilt demnach:

$$\frac{d[AB_f]}{dt} = k_a[AB_e] = \frac{k_a k_d [A][B]}{k_a + k'_d} = k_r[A][B], \quad (12.3)$$

wobei eine effektiven Reaktionsgeschwindigkeit $k_r = \frac{k_a k_d}{k_a + k'_d}$ eingeführt wurde. Für den Fall, dass die Rückbildung des Encounter-Komplexes stark unterdrückt ist, also $k'_d \ll k_d$ gilt, vereinfacht sich die effektiven Reaktionsgeschwindigkeit:

$$k_r \approx \frac{k_a k_d}{k_a} = k_d, \quad (12.4)$$

die Bildung des finalen Komplexes hängt somit nur von der Anlagerungsgeschwindigkeit der Edukte ab. Da die Geschwindigkeit der Anlagerung der Partnermoleküle maßgeblich durch ihre Diffusionsgeschwindigkeit beeinflusst wird, nennt man solche Prozesse *diffusionskontrolliert*.

Es ist möglich aus der vorgegebenen Diffusionskonstante D und dem effektiven Radius R der diffundierenden Moleküle die maximal mögliche Assoziationsrate k_d zu berechnen. Dazu betrachtet man vereinfachend die (diffusionskontrollierte) Assoziation eines Teilchens B mit einem Teilchen A:

$$\frac{\partial[B]}{\partial t} = D \vec{\nabla}^2[B]. \quad (12.5)$$

Grundsätzlich könnte man beide Teilchen diffundieren lassen, aber unter der Annahme, dass $R_A \gg R_B$ ist, kann das Molekül A als fixiert angenommen werden. Als nächstes soll angenommen werden, dass nur der Abstand zwischen A und B zählt und es keine Winkelabhängigkeiten gibt, als auch dass jedes Aufeinandertreffen beider Moleküle zu einer Assoziation führt. Im Fließgleichgewicht gilt dann für die Konzentration von B:

$$\frac{\partial^2[B]}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial[B]}{\partial r} = 0. \quad (12.6)$$

Die Lösung dieser Differentialgleichung lautet:

$$[B] = a + \frac{b}{r}, \quad (12.7)$$

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE

was mit den Randbedingungen $[B] = [B]^{\text{bulk}}$ für $r \rightarrow \infty$ und $[B] = 0$ bei $r = R$ zu

$$[B] = \left(1 - \frac{R}{r}\right)[B]^{\text{bulk}} \quad (12.8)$$

wird. Nun soll der Fluss $j_{B \rightarrow A}$ der auf A treffenden Moleküle B berechnet werden. Mit dem Teilchenfluss pro Flächeneinheit j_m der Teilchen B:

$$j_m = D \frac{\partial[B]}{\partial r} \Big|_{r=R} = D \frac{[B]}{R} \quad (12.9)$$

folgt im Abstand des effektiven Radius des Moleküls A für den Fluss:

$$j_{B \rightarrow A} = 4\pi R^2 j_m = 4\pi RD[B]. \quad (12.10)$$

Der Fluss $j_{B \rightarrow A}$ ist erst einmal nur der Teilchenfluss der Moleküle B auf *ein* Molekül A, die Reaktionsrate ist aber der Gesamtfluss der Moleküle B zu *allen* Molekülen A. Bei gegebener Konzentration der Teilchen A gibt es in einem Volumen V genau

$$N = N_A V[A] \quad (12.11)$$

Moleküle, womit für den globalen Gesamtfluss folgt:

$$j_{B \rightarrow A}^{\text{global}} = 4\pi RD N_A V[A][B]. \quad (12.12)$$

Damit kann nun die Bildung des finalen Komplexes als

$$\frac{\partial[AB_f]}{\partial t} = 4\pi RD N_A [A][B] \quad (12.13)$$

geschrieben werden, woraus schlussendlich für Assoziationsrate k_d folgt:

$$k_d = 4\pi RD N_A \quad (12.14)$$

Die Assoziationsraten der diffundierenden Teilchen können durch elektrische Felder erhöht werden, auch werden die Assoziationsraten durch Wechselwirkungen mit anderen Biomolekülen stark beeinflusst.

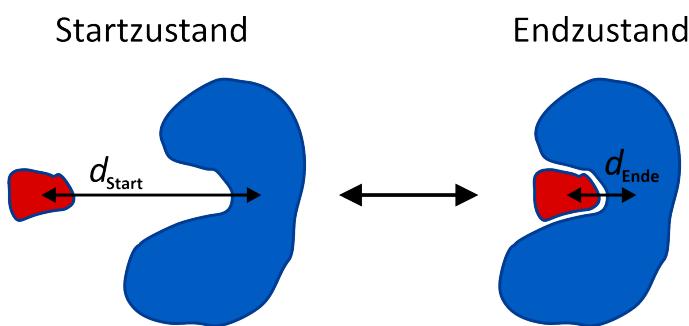
12.2 Einflüsse auf die Assoziation

In praktisch allen biologischen Vorgänge sind Assoziations- oder Bindungsprozesse von Biomolekülen involviert. Deshalb ist es wichtig zu verstehen, welche Wechselwirkungen zu einer Assoziation führen. Manche Proteine binden beispielsweise nicht miteinander oder nur auf eine ganz spezifische Weise. Die energetische Beiträge zur Assoziation sind die intermolekularen Wechselwirkungen, aber auch die Änderung der Wechselwirkung mit dem Solvens (zwei getrennte Moleküle besitzen eine größere Oberfläche und somit mehr Wechselwirkungsmöglichkeiten mit dem Solvens) oder die Änderung der intramolekularen Wechselwirkungen (z. B. ist eine zu starke Deformation der Moleküle

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE

nicht-favorisierend). Es gibt auch entropische Beiträge zur Bindungsreaktion, wie die Einschränkung der translatorischen Beweglichkeit, die Einschränkung der Orientierungsfreiheitsgrade, die Änderung der Zahl stabiler Zustände oder der Änderung der Entropie des Solvens. Wie genau die Einflüsse der verschiedenen Beiträge und Reichweiten auf die Assoziation von Biomolekülen sind, ist Gegenstand intensiver Forschung.

Wie kann nun die Änderung der Freien Energie des Assoziationsprozesses bestimmt bzw. nachvollzogen werden? Ein einfacher Weg besteht darin, die Änderung der Freien Energie für z. B. die Bindung eines Liganden entlang eines vorgegebenen Reaktionsweges mithilfe der Moleküldynamik-Simulation zu berechnen.

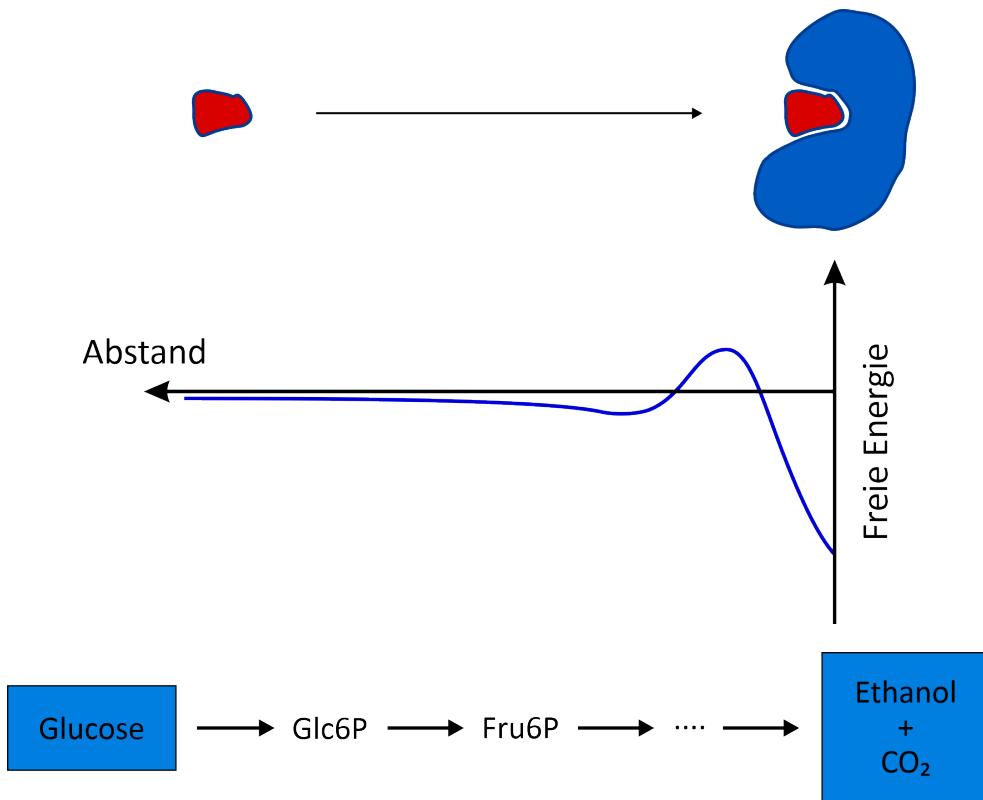


Man definiert dafür einen Startzustand, bei dem sich der Ligand im Abstand d_{Start} vom Molekül befindet (der Abstand sollte derart gewählt werden, dass dort noch keine intermolekularen Wechselwirkungen auftreten) und einen Endzustand, bei dem der Ligand den Bindungsabstand d_{End} besitzt. Die Änderung der Freien Energie des Bindungsprozesses entspricht dann gerade der Arbeit entlang des Weges $d_{\text{Start}} - d_{\text{Ende}}$ (vgl. Thermodynamische Integration). Das Profil der Freien Energie ist bei großen Abständen durch einen Verlauf ähnlich der Debye-Hückel-Gleichung gekennzeichnet, bei kurzen Abständen, bei welchen die rotatorischen/translatorischen Freiheitsgrade, die Interaktion mit dem Solvens oder die Beweglichkeit des Solvens bereits eingeschränkt werden, steigt die Energie an und bei noch kürzeren Abständen, falls die Partnermoleküle eine spezifische Bindung eingegangen sind, fällt die Energie stark ab, da dort kurzreichweite Wechselwirkungen (z. B. Packungsinteraktionen, hydrophile und hydrophobe Kontakte) überwiegen.

12.3 Metabolische Systeme

Bis jetzt wurde überwiegend die molekulare Biophysik betrachtet, also z. B. die Protein-Protein-Wechselwirkung oder Faltungs- und Strukturbildungsprozesse, insbesondere wurden dabei die Systeme als isoliert angenommen. In biologische Systeme treten häufig Netzwerke von Interaktionen auf, es reicht nicht, sich nur einzelne Interaktionen herauszugreifen. Wie kann ein solches **metabolisches System** – d. h. ein System von Reaktionen, welche ein Edukt enzymatisch in eine gewisse Anzahl von Produkten umsetzen – charakterisiert werden?

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE



In einem metabolischen Netzwerk unterscheidet man zwischen *Nodes*, das sind die Edukte/Produkte der enzymatischen Reaktionen, und *Kanten/Pfeile*, den eigentlichen enzymatischen Reaktionen mit bestimmten Reaktionsraten, Gleichgewichtskonstanten und Abhängigkeiten von Enzymeffizienzen und -konzentrationen. Jede enzymatische Reaktion kann durch eine kinetische Differentialgleichung beschrieben werden (z. B. über die Michaelis-Menten-Kinetik), womit das ganze metabolische System dann über ein System von gekoppelten Differentialgleichungen bestimmt werden kann. Ein Beispiel für ein metabolisches System wäre das System gekoppelter Reaktionen:



mit dem entsprechenden System gekoppelter Differentialgleichungen:

$$\frac{d[C]}{dt} = k_1[A][B] \tag{12.15}$$

$$\frac{d[D]}{dt} = k_2[C][B] \tag{12.16}$$

$$\frac{d[F]}{dt} = \frac{d[G]}{dt} = k_3[D][E] \tag{12.17}$$

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE

$$\frac{d[A]}{dt} = k_4[E][G]. \quad (12.18)$$

Die Reaktionen sind durch die Konzentrationen der Edukte und Produkte sowie der kinetischen Konstanten bestimmt und können nicht analytisch aufgelöst werden. Es existieren verschiedene Methoden eine numerische Lösung der kinetischen Gleichungen zu finden. Die einfachste Vorschrift ist die **Euler-Methode**, bei der die Lösung der Differentialgleichung

$$\frac{dy}{dt} = f(y, t) \quad (12.19)$$

in kleinen Schritten Δt genähert wird:

$$y_{n+1} = y_n + \Delta t f(t_n, y_n). \quad (12.20)$$

Nur bei sehr kleinen Schritten ist die Euler-Methode sinnvoll anzuwenden, da sonst eine sehr hohe Fehlerakkumulation auftritt; eine genauere Methoden – die *Runge-Kutta-Methode* – benutzt Werte an mehreren Stützstellen.

Im Allgemeinen, besonders für Stoffwechselprozesse, strebt die numerische Lösung einem Fließgleichgewicht entgegen. Bei einem Fließgleichgewicht geschieht die Aufnahme und Produktion der Edukte und Produkte durch die Zelle mit einer konstanten Rate. Das Fließgleichgewicht eines Systems ist stark von limitierenden Schritt im Reaktionsnetzwerk abhängig. Dieser **metabolische Kontrolle** genannter Effekt kann mithilfe von Simulationen untersucht und mithilfe der Fluss-Kontrollkoeffizienten $C_{E_k}^J$ charakterisiert werden; die Reaktion mit dem größten Fluss-Kontrollkoeffizienten hat den größten Einfluss auf den Reaktionspfad. Der Kontrollkoeffizient gibt dabei an, wie sich der Fluss J bei einer Konzentrationsänderung eines Enzyms E_k verändert:

$$C_{E_k}^J = \frac{[E_k]}{J} \frac{\partial J}{\partial [E_k]} = \frac{\partial \ln(J)}{\partial \ln([E_k])}. \quad (12.21)$$

12.4 Stochastisches Verhalten bei niedrigen Konzentrationen

Das für die Behandlung durch kinetischen Differentialgleichungen essenzielle Konzept einer kontinuierlichen Konzentrationsvariable ist bei niedrigen Partikelkonzentrationen nicht mehr realistisch. Bei niedrigen Konzentrationen liegt keine deterministische Verhalten der Teilchen mehr vor, betrachtet man z. B. eine Zelle, die aufgrund eines Signals einen Transkriptionsprozess (Synthese von RNA anhand einer DNA als Vorlage) aktiviert, dann kann bei einer niedrigen Konzentration der notwendigen DNA-Polymerase das Anschalten eines Gens innerhalb weniger Sekunden aber auch innerhalb mehrerer Minuten geschehen. Bei niedrigen Konzentrationen spielt der Zufall, die Stochastik des Vorgangs, eine dominanten Rolle in der Reaktion aber auch dem Gesamtverhalten eines Zellverbandes. Viele Biomoleküle gerade in der Signalübertragung und -verarbeitung liegen in einer Zelle nur in sehr niedriger Konzentration vor, d. h. das zufällige Zusammentreffen spielt für die zeitliche Entwicklung eine wichtige Rolle.

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE

Eine wichtige Simulationsmethode für die Berücksichtigung der stochastischen Effekte ist die **Gillespie-Methode**: bei diesem Verfahren sind nicht Konzentrationen die Variablen, sondern Teilchenzahlen, auch werden die Reaktionsraten durch Wahrscheinlichkeiten der Reaktion ersetzt. Ist beispielsweise ein Zustand

$$S(t) = (N_A, N_B, N_C, N_D, N_E, N_F, N_G) \quad (12.22)$$

mit der Anzahl N_X eines Moleküls X gegeben, kann dieser durch Reaktion von A und B zu C nach einer Zeit dt in den neuen Zustand

$$S(t + dt) = (N_A - 1, N_B - 1, N_C + 1, N_D, N_E, N_F, N_G) \quad (12.23)$$

übergehen. Wie kann man nun bestimmen, welche Reaktion im Netzwerk als nächstes stattfindet, und wann es passiert? Dafür ist es zuerst wichtig die Wahrscheinlichkeit $P(i, \tau)$ zu kennen, mit der eine Reaktion i nach einer gewissen Zeit τ bereits stattgefunden hat. Man kann zeigen, dass sie die Form

$$P(i, \tau) d\tau = a_i \exp\left(-\tau \sum_j a_j\right) d\tau \quad (12.24)$$

besitzt. Der Faktor $a_i = \frac{dP_i}{dt}$ ist die zeitliche Änderung des Produkts P_i einer Reaktion und entspricht einer Zeitkonstante. Integriert man diesen Ausdruck über alle τ , erhält man die Wahrscheinlichkeit, dass die Reaktion i überhaupt stattfindet:

$$P(i) = \frac{a_i}{\sum_j a_j}. \quad (12.25)$$

Es ist offensichtlich, dass eine Reaktion mit einer größeren Zeitkonstante a_i eher stattfindet als eine Reaktion mit einer niedrigeren. Summiert man $P(i, \tau)$ über alle Reaktionen, erhält man eine Wahrscheinlichkeitsverteilung für die Zeit τ :

$$P(\tau) = \left(\sum_i a_i \right) \exp\left(-\tau \sum_j a_j\right). \quad (12.26)$$

Mithilfe der Wahrscheinlichkeiten für die Auswahl einer Reaktion und der Zeitverteilung lässt sich das Reaktionsnetzwerk nun stochastisch simulieren. Der Algorithmus der stochastischen Kinetik lautet wie folgt:

1. Wähle eine Startanzahlen für die beteiligten Moleküle aus (zum Zeitpunkt $t = 0$)
2. Berechne die Zeitkonstanten der Reaktionen (solche mit großer Reaktionskonstante oder großen Teilchenzahlen haben große Zeitkonstanten)
3. Wähle eine Reaktion i zufällig nach der Verteilung (12.25) aus
4. Wähle einen Zeitschritt τ nach der Verteilung (12.26) aus

12 ASSOZIATION VON BIOMOLEKÜLEN UND REAKTIONSNETZWERKE

5. Ändere die Anzahl der Moleküle entsprechend der gewählten Reaktion
6. Wiederhole ab 2.

Die stochastische, numerische Lösung der kinetischen Differentialgleichungen ergibt für kleine Teilchenzahlen eine diskontinuierliche (stochastische) Lösungen. Die stochastischen Lösungen folgen nur im Mittel den klassischen Lösungen der kinetischen Differentialgleichungen (für kleine Teilchenzahlen). Diese Art der Simulationen werden vielfach genutzt, um Signaltransduktion, Genexpression, Replikation usw. in Zellen zu simulieren. Es ist dabei auch möglich, räumliche Variationen und Transportprozesse mit einzubinden.

