

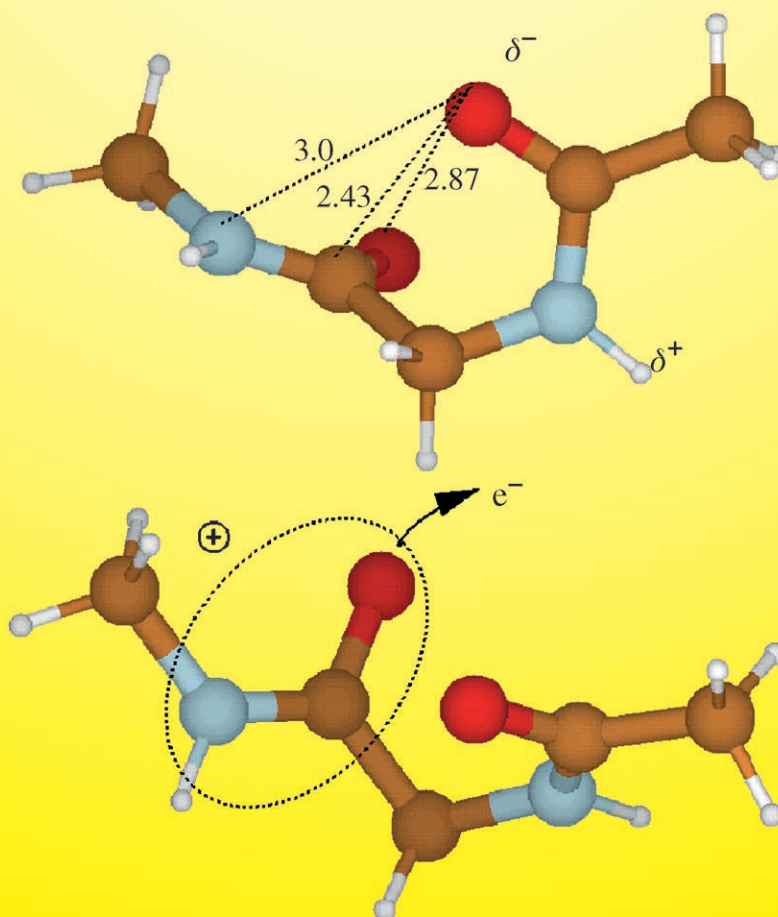
# Distaler Ladungstransport in Peptiden

Edward W. Schlag,\* Sheh-Yi Sheu, Dah-Yen Yang, Heinrich L. Selzle und Sheng Hsien Lin

**Stichwörter:**

Ladungstransfer · Leitfähigkeit ·  
Moleküldynamik · Peptide ·  
Reaktionsdynamik

entscheidende Konformation  
für Ladungstransfer in Peptiden



**B**iologische Systeme transportieren Ladungen und reaktive Prozesse häufig über beträchtliche Entfernungen. Traditionelle Modelle der chemischen Kinetik können solche extremen distalen Prozesse gewöhnlich nicht beschreiben. In diesem Aufsatz betrachten wir ein atomares Modell für eine distale Informationsübertragung, das speziell für Peptide entwickelt wurde. Dabei wird die chemische Reaktivität als Ergebnis distaler Wirkungen betrachtet, die auf einer difunktionalen Zwei-Stufen-Kinetik, verbunden mit Bewegungen von Peptiden auf der Sub-Pikosekundenskala beruht. Das difunktionale Modell ergibt einen hocheffizienten Transport von Ladung und Reaktivität über eine beträchtliche Entfernung in einem isolierten Peptid; in einer wässrigen Umgebung wird dagegen eine sehr niedrige Effizienz gefunden. Dem Modell zufolge findet in einer Peptidumgebung eine ultraschnelle Übertragung von Ladung und Reaktivität über eine beträchtliche Entfernung statt. In einem Protein können viele solcher Domänen aktiv sein.

## Aus dem Inhalt

1. Einleitung	3259
2. Energetik	3263
3. Rechnungen	3265
4. MD-Simulation und Verteilung der mittleren first passage time	3267
5. Isoliertes System	3268
6. Die wässrige Umgebung	3268
7. Sekundärstruktur	3270
8. Schlussfolgerungen	3270
9. Nachwort	3271

## 1. Einleitung

Eine der vielen wichtigen Funktionen von Proteinen ist die Übertragung von Informationen mithilfe einer Ladung oder chemischen Veränderung über beträchtliche Entfernungen innerhalb der Proteinkette, beispielsweise der Ladungstransport durch eine Zellwand zur Aktivierung intrazellulärer chemischer Prozesse. Chemische Reaktionen, die an einer Stelle ablaufen, die weit vom Ursprung der Anregung entfernt ist, sind eine häufige Beobachtung bei Proteinen und damit von grundlegender Bedeutung; auf atomarer Ebene sind sie allerdings noch nicht gut verstanden.<sup>[1–17]</sup> Konventionelle Theorien der chemischen Kinetik können nicht direkt auf eine Wirkung über große Entfernungen angewendet werden, da ein solcher chemischer Transport häufig auch eine Ladungswanderung einschließt. Daher ist die Entwicklung von Modellen für eine distale Wirkung von Interesse, um herauszufinden, wie ein Reiz an einer Stelle Molekülbewegungen an einer anderen, entfernten Stelle verursacht. Eine solche Wirkung kann als chemische Reaktion betrachtet werden, die weit entfernt vom Ursprung des Signals oder der Ladung stattfindet. Wir bezeichnen diesen Prozess des Transfers von Reaktivität (R) und Ladung (C) hier als RC-Übertragung; dies ist ein wichtiger Prozess für komplexere Signalübertragungen. Ein Problem eines solchen Modells ist, dass dissipative Prozesse mit vielen Schwingungsfreiheitsgraden entlang des Weges häufig eine chemische Reaktivität an der entfernten Stelle und damit auch einen Transport verhindern.<sup>[18,19]</sup> Wir betrachten hier die RC-Übertragung für einfache Peptide, die sich ungeachtet der vielen Freiheitsgrade durch eine ultraschnelle langreichweitige Übertragung auszeichnen.

Langreichweitiger Elektronentransfer (ET) ist ein grundlegender Mechanismus in vielfältigen biologischen Systemen.<sup>[20]</sup> Elektronübertragungen sind direkt oder indirekt an vielen biologischen Prozessen beteiligt,<sup>[21]</sup> z.B. an der

oxidativen Phosphorylierung, der Photosynthese,<sup>[22–24]</sup> der Leitfähigkeit der DNA-Helix<sup>[25]</sup> und der aeroben Atmung.<sup>[26]</sup> Normalerweise ist an diesen Prozessen ein Metallion-Biomolekül-Metallion-System beteiligt, in dem die Metallionen weit voneinander getrennt sind – in einigen Fällen kann der Abstand mehr als 10 Å betragen. Isied et al.<sup>[27]</sup> veröffentlichten 1980 einen Elektronentransfer zwischen zwei Redoxzentren, der über eine Polypeptidbrücke vermittelt wurde. Gray und Winkler<sup>[26]</sup> gelang es, die Redoxzentren an ein Protein, z.B. an Myoglobin oder Cytochrom c, zu knüpfen. Dieses modifizierte Donor-Protein-Acceptor-System ermöglichte die Untersuchung der Abstands- und Strukturabhängigkeit von ET-Prozessen.<sup>[21,28–34]</sup>

Welchen Einfluss würde das Anbringen einer reinen Ladung an einem Peptid, z.B. bei einer lokalisierten Photoionisation am C-Terminus, auf die Chemie und die Ladungsweiterleitung im Peptid zum N-Terminus haben? Ein solches Modell für distale Prozesse könnte auf verschiedenen Ebenen getestet werden. Zuerst untersuchen wir den Transport der Ladung und Reaktivität für den Fall des isolierten Moleküls. Anschließend untersuchen wir das möglicherweise verän-

[\*] Prof. Dr. E. W. Schlag, Priv.-Doz. Dr. H. L. Selzle  
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie  
Technische Universität München  
Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching (Deutschland)  
Fax: (+49) 89-289-13389  
E-Mail: [schlag@mytum.de](mailto:schlag@mytum.de)  
Homepage: <http://www.phys.chemie.tu-muenchen.de/staff/schlag/>  
Prof. Dr. S.-Y. Sheu  
Faculty of Life Science  
National Yang-Ming University  
Taipei (Taiwan)  
Dr. D.-Y. Yang, Prof. Dr. S. H. Lin  
Institute of Atomic and Molecular Science  
Academia Sinica  
Taipei (Taiwan)

derte Verhalten des Prozesses in einem Medium wie Wasser. Hier stellt sich die Frage: Wie beeinflusst das Medium die Informationsübertragung in Bezug auf die Geschwindigkeit und die Ausbeute? Experimente an einfachen Modellpeptiden haben nun gezeigt, dass der Prozess im isolierten Molekül außerordentlich effizient sein kann – hingegen wird für den gleichen Prozess in Wasser vorausgesagt, dass er normalerweise um zwei Größenordnungen weniger effizient ist.<sup>[35–38]</sup> Wünschenswert wäre die Entwicklung eines einfachen Modells, das zumindest für Peptide zum Verständnis solcher Extremfälle führt.

Wir haben eine Reihe von Experimenten an solchen isolierten Modellpeptiden durchgeführt, in denen wir eine hocheffiziente Ladungsübertragung entlang der Hauptkette des Peptids und damit einhergehende, langreichweitige chemische Reaktionen beobachteten.<sup>[1–4]</sup> Diese Peptide sind zwar

eher klein, repräsentieren aber wegen ihrer beachtlichen Zahl an Freiheitsgraden eine enorme Menge an mikroskopischen Zuständen und lassen daher in konventionellen Modellen nur sehr wenig Reaktivität erwarten. Experimente haben gezeigt, dass sich eine solche Übertragung durch den Einbau von bestimmten Aminosäuren in die Kette in großem Umfang steuern, ja sich sogar an- und abschalten lässt. Eine wesentliche Frage ist nun, wie in bestimmten nichtkonjugierten organischen Systemen eine solche Übertragung zu solch entfernten Stellen effizient mithilfe atomarer Bewegungen gelingt. Die Übertragung über große Distanzen könnte einen wichtigen Modellcharakter für die Mechanismen biologischer Reaktionen haben.

Chemische Reaktionen finden üblicherweise lokal oder in unmittelbarer Nachbarschaft zur Stelle der Anregung statt.<sup>[39,40]</sup> Die übliche mechanistische Theorie zur Erklärung der Reaktivität bezieht sich lediglich auf lokale Anregungen und schließlich einen Bindungsbruch oder eine andere Bindungsänderung infolge der Tatsache, dass Energie durch einen statistischen Prozess gekoppelt und auf diese Bindung übertragen wird. Dieses Modell liegt der Formulierung eines Übergangszustands oder der statistischen unimolekularen Theorie der chemischen Kinetik zugrunde<sup>[41]</sup> und war Basis der meisten theoretischen Interpretationen der chemischen Kinetik seit der ersten Anwendung der Theorie von Rice, Ramsperger, Kassel und Marcus (RRKM-Theorie)<sup>[42]</sup> durch Rabinovitch et al. vor etwa 50 Jahren.<sup>[43–45]</sup> Solche statistischen Prozesse koppeln gewöhnlich an alle Freiheitsgrade der Reaktanten. Ein solches Modell der Kopplung an alle Freiheitsgrade kann nicht auf eine langreichweitige biologische RC-Übertragung angewendet werden, da die Zahl an Ei-



*Edward Schlag, geboren in Los Angeles, promovierte bei B. S. Rabinovitch an der University of Washington. Von 1969 bis 1971 war er Professor an der Northwestern University in Evanston, IL, und folgte 1971 dem Ruf auf den Lehrstuhl für Physikalische Chemie I an die TU München. Seine Forschung umfasst die zeitliche Verfolgung von Primärprozessen von Molekülen in der Gasphase und chemische Spektroskopie mit Lasern. 1988 entdeckte er langlebige molekulare Rydberg-Zustände im Kontinuum als Grundlage für eine neue Spektroskopie (ZEKE). Er ist Mitglied der Bayerischen Akademie der Wissenschaften und der Academia Europea.*



*Sheh-Yi Sheu ist derzeit Professor an der Faculty of Science, National Yang-Ming University (Taipei, Taiwan). Sie hat sich mit Bioinformatik, Moleküldynamiksimulation von allosterischen Enzymen und Ladungstransfer befasst. Ihr Forschungsinteresse gilt derzeit Ausflussprozessen in Enzymmolekülen, der Ionenpumpe und der Proteintranslokation.*



*Heinrich L. Selzle wurde 1944 in Dachau geboren. Er studierte bis 1969 Physik an der TU München und promovierte 1971 am Institut für Physikalische Chemie bei H. Gerischer. Anschließend arbeitete er als Postdoktorand bei E. W. Schlag an der Northwestern University, Evanston. Er kehrte schließlich an die TU München zurück, wo er 2000 habilitierte und seitdem als Dozent tätig ist. Zu seinen Forschungsgebieten zählten das Studium der Struktur von molekularen und Metallclustern und ihrer schwachen Wechselwirkungen im angeregten Zustand sowie die ZEKE-Spektroskopie.*



*Dah-Yen Yang ist wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institute of Atomic and Molecular Science, Academia Sinica (Taipei, Taiwan). Er beschäftigt sich mit biomolekularen Simulationen von Ionenkanälen, molekularen Motoren und Elektronentransfer, Ladungsleitung von molekularem Draht, Quantenpumpen, Ionenpumpen sowie Rechnungen zu biomolekularen Systemen.*



*Sheng Hsien Lin ist wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institute of Atomic and Molecular Science (Taipei, Taiwan) und Mitglied der Academia Sinica. Er promovierte an der University of Utah, Salt Lake City, UT, und arbeitete als Postdoktorand an der Columbia University, NY. Seine Arbeitsgruppe hat Theorien zur Frequenzverdopplung, Summenfrequenzerzeugung, Resonanz-Raman-Streuung und Dynamik des angeregten Zustands (wie strahlungslose Übergänge, Schwingungsrelaxation, ultraschneller photo-induzierter Elektronen- und Energietransfer) entwickelt.*

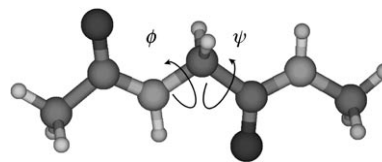
genzuständen in solch großen Systemen und der damit verbundene Phasenraum sogar für Peptide astronomisch groß werden. Jegliche lokale Energie würde vor der Ankunft an der entfernten Stelle dissipiert werden oder würde astronomische Zeitspannen für die chemische Reaktion von Systemen mit mehr als zwei oder drei Resten benötigen.<sup>[46]</sup>

Angesichts der Tatsache, dass solche distalen Prozesse für viele biologische Systeme experimentell nachgewiesen wurden und auch recht effizient ablaufen, muss für ihre Erklärung nach einem anderen Modell gesucht werden. Levinthal<sup>[18,19]</sup> erkannte dieses Problem bei der Proteinfaltung,<sup>[47]</sup> bei der ebenfalls zu viele Freiheitsgrade verhindern, dass der Prozess in einer endlichen Zeitspanne abläuft. Zwar wurden bereits viele Vorschläge zur Umgehung dieses Problems gemacht, die Diskussion ist aber noch nicht beendet.<sup>[48–50]</sup> Diese vielen Freiheitsgrade für Peptide koppeln jedoch nicht bei den hier beteiligten, niedrigen Energien von etwa  $200\text{ cm}^{-1}$ . Schwellwerte für eine intramolekulare Schwingungsrelaxation (IVR) in der Kinetik betragen gewöhnlich mindestens  $1200\text{ cm}^{-1}$ <sup>[51]</sup> oder  $2200\text{ cm}^{-1}$ <sup>[52]</sup> und bei niedrigen Energien sogar mehr,<sup>[53,54]</sup> wenngleich sich die Situation für sehr große Moleküle mit weichen Schwingungsmoden unterscheiden kann. Die hier vorgeschlagene Kopplung tritt also ein, bevor alle Moden über IVR miteinander in Kontakt treten und somit in einem sehr reduzierten Phasenraum.

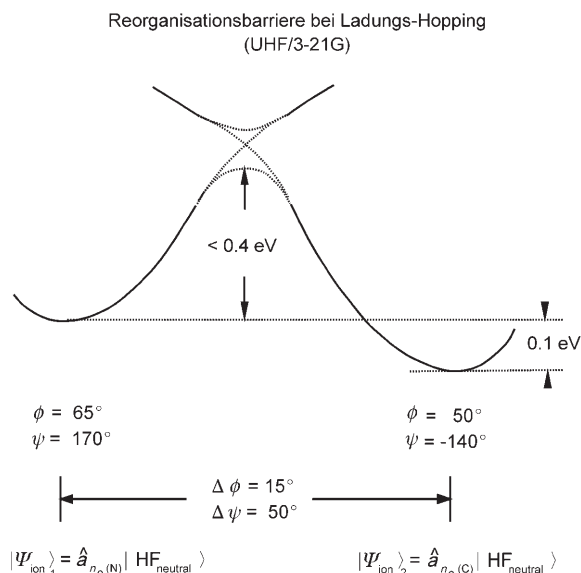
Zunächst betrachten wir die neuesten experimentellen Daten für Modellpeptide. Diese Ergebnisse liefern bereits einen überzeugenden Beleg dafür, dass solch ein effizienter Ablauf über eine größere Entfernung selbst für das isolierte Molekül existiert, was darauf schließen lässt, dass es sich um eine rein molekulare Eigenschaft handelt. Wir präsentieren ein Modell, das die neuen Daten abdecken soll und bestimmte molekulare Bedingungen vorhersagt, unter denen solche Abläufe möglich oder nicht möglich sind. Ferner müssen wir den beobachteten starken Einfluss der Umgebung auf diesen Prozess erläutern, da die Effizienz in Wasser stark abnimmt.

Eine typische Theorie zum Verständnis von Leitfähigkeit in Proteinen kann darauf basieren, die Matricelemente für die Kopplung der Aminosäuren zu berechnen, die in einer ungefähr gemittelten Konformation angeordnet sind. Solche Rechnungen wurden für ein Modellpeptid (Abbildung 1) durchgeführt und zeigen, dass die Energetik zwischen benachbarten Positionen normalerweise die Überwindung einer Barriere von etwa  $0.4\text{ eV}$  erfordert (Abbildung 2). Bei für biologische Prozesse üblichen Temperaturen ist diese Barriere nur schwer zu überwinden. Dadurch werden die Prozesse ineffizienter, wie es in Untersuchungen in wässrigem Medium tatsächlich beobachtet wurde. Der sehr leichte Ladungstransport in der Gasphase lässt sich so jedoch nicht erklären.

Gemäß der Marcus-Theorie ist eine ET-Geschwindigkeit proportional zum Produkt des Quadrats der elektronischen Kopplungskonstante und des Franck-Condon-Faktors, der auf der treibenden Kraft und der Lösungsmittelreorganisationsenergie beruht. In der Marcus-Theorie war zunächst kein abstandsabhängiger Faktor enthalten. Später wurde die Marcus-Theorie erweitert,<sup>[55]</sup> um einen abstandsabhängigen Faktor  $e^{-\beta(R-R_0)}$  einzufügen, wobei  $\beta$  die abstandsabhängige



**Abbildung 1.** Modellpeptid für die Berechnung der Wechselwirkung zwischen zwei benachbarten Aminosäuren für den Ladungstransfer entlang einer Peptidkette.



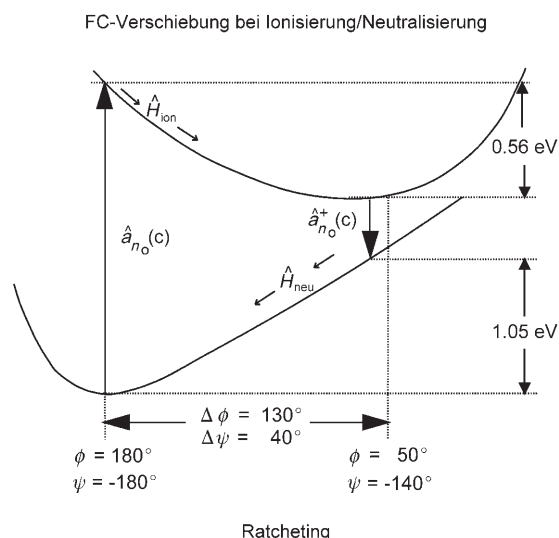
**Abbildung 2.** Verringerung der Barriere für den Ladungstransport zwischen benachbarten Aminosäuren (identische Reste) als Funktion der Ramachandran-Winkel  $\psi$  und  $\phi$  in Abbildung 1. Die Ladung springt durch einen nichtadiabatischen Übergang vom ionischen Zustand 1 zum ionischen Zustand 2. Nach diabatischer Transformation beträgt die Barriere für den Ladungstransfer etwa  $0.4\text{ eV}$ . Der Ladungstransfer hängt tatsächlich von den Ramachandran-Winkeln ab. Details sind in Abbildung 3 dargestellt. Die Ab-initio-Rechnung erfolgte auf der Basis der UHF/3-21G-Methode.  $|\psi_{\text{ion}}\rangle_1$  = elektronische Wellenfunktion mit Ladung auf der N-Seite,  $|\psi_{\text{ion}}\rangle_2$  = elektronische Wellenfunktion mit Ladung auf der C-Seite.

Abklingkonstante,  $R$  der Abstand zwischen den Redoxstellen und  $R_0$  der Abstand bei der stärksten Annäherung zwischen Donor und Acceptor ist. Ein normaler experimenteller  $\beta$ -Wert beträgt für DNA ca.  $0.77\text{ Å}^{-1}$ ,<sup>[56,57]</sup> für eine  $\alpha$ -Helix ca.  $1.26\text{ Å}^{-1}$  und für ein  $\beta$ -Faltblatt ca.  $1.00\text{ Å}^{-1}$ .<sup>[56,57]</sup> Viele Arbeitsgruppen, wie Beratan, Onuchic et al., führten theoretische Untersuchungen unter Verwendung eines Tunnelmodells zur Ermittlung des abstandsabhängigen Faktors durch.<sup>[58–86]</sup> Auch ein Superaustauschmodell, das auf nicht-adiabatischem Tunneln von Elektronen basiert, wurde vorgeschlagen.<sup>[87–89]</sup> Diese Modelle beruhen häufig auf einer gemittelten Hauptkettenstruktur.

In einer früheren Arbeit<sup>[11]</sup> schlugen wir als Erklärung vor, dass Peptide eine einzigartige Moleküleigenschaft aufweisen, die sich daraus ergibt, dass die einzelnen Aminosäurepositionen leichte Rotationen über sehr große Winkel (die Ramachandran-Winkel der Polypeptide) durchlaufen können. Diese Bewegungen sind durch die nahezu flache Potential-



hyperfläche innerhalb des Ramachandran-Diagramms gekennzeichnet. Dies wird besonders für das isolierte Molekül beobachtet. Wir erhielten dann als weiteres überraschendes Ergebnis, dass die Energetik zwischen typischen Modell-Aminosäurepositionen nicht konstant ist, sondern stark mit den Ramachandran-Winkeln der beiden Positionen zueinander variiert; daher entspricht das durchschnittliche Verhalten nicht dem Verhalten beim durchschnittlichen Winkel. Baranov und Schlag<sup>[6]</sup> stellten fest, dass es tatsächlich einen bevorzugten Winkel zwischen zwei benachbarten Aminosäuren gibt, bei dem die Barriere zwischen den beiden Positionen gegenüber der Barriere von 0.4 eV beim durchschnittlichen Winkel vernachlässigbar ist. Die Bewegung ist in Abbildung 3



**Abbildung 3.** Potentialfläche für den Ladungstransport als Ergebnis einer Winkelverdrehung zwischen benachbarten Aminosäuren; dabei ist die hohe Effizienz des Transports bei nahe stehenden benachbarten CO-Gruppen besonders bemerkenswert; FC = Franck-Condon,  $\hat{H}_{\text{ion}}$  = Energie im Ion,  $\hat{H}_{\text{neu}}$  = Energie im Neutralen. Die vertikalen Linien repräsentieren die Übergangsenergien zwischen den relevanten elektronischen Zuständen. Die obere Kurve repräsentiert den ionischen Zustand und die untere Kurve den neutralen. Die Ladung wird aus dem Grundzustand über einen Franck-Condon-Übergang angeregt. Die verdrehte Bewegung der Ramachandran-Winkel verschiebt den ionischen Zustand zum Schnittpunkt der Kurve, die Ladung wird zurück in den neutralen Grundzustand übertragen. Dieser Prozess wird als eine Art von Ratcheting bezeichnet.

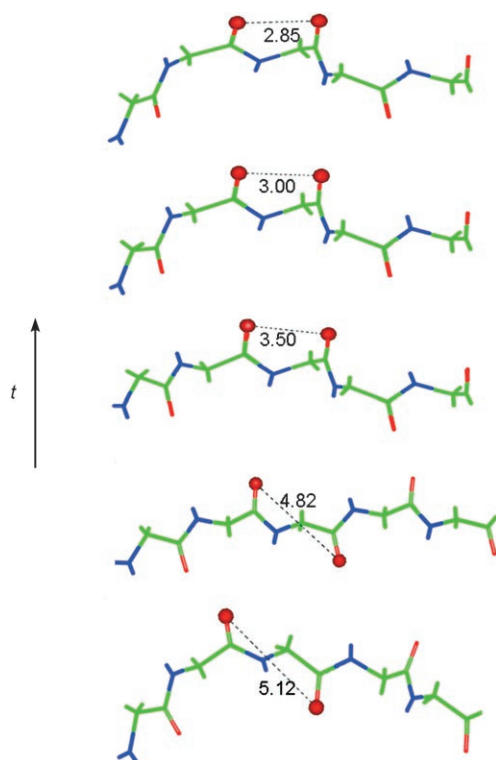
dargestellt, in der der ionische Zustand verdreht ist, bis er einen nahezu entarteten Zustand erreicht, bei dem sich die Kurven kreuzen und die Ladung an dieser Stelle in den Grundzustand zurückkehrt, aus dem eine Rotation zurück zur Gleichgewichtskonformation folgt. Auch hier wird wieder deutlich, dass Bewegungen eine wichtige Bedingung für die Reaktivität sind.<sup>[90]</sup>

Stellen wir nun die Frage nach dem Verlauf der Übertragung zwischen gleichartigen benachbarten Aminosäuren. Ab-initio-Rechnungen für den Transport der Ladung vom  $\alpha$ -Kohlenstoffatom ergaben, dass dieser einmal in Richtung der N-Seite und einmal in Richtung der C-Seite verläuft. Unsere Rechnungen führten zu dem Resultat, dass zwischen den

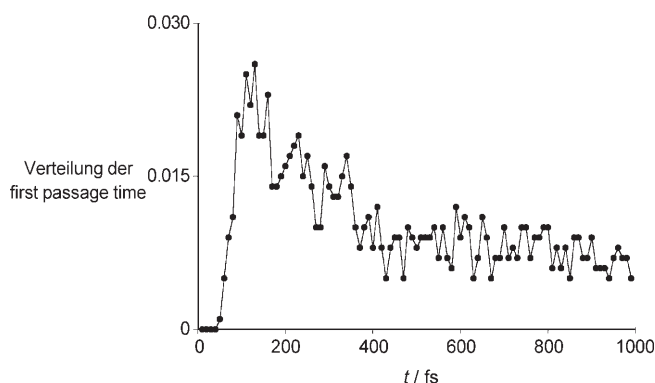
beiden Richtungen ein Unterschied von 0.4 eV besteht und der Ladungstransport bei niedrigen Energien damit relativ ineffizient verläuft.<sup>[6]</sup> Solch schlechte Kopplungen sind von Aminosäuren bekannt.<sup>[91]</sup> Rechnungen an einem vereinfachten Modell durch Baranov und Schlag führten zu dem Ergebnis, dass diese Barriere bei extremen Auslenkungen des Diederwinkels, wenn zwei benachbarte Carbonylgruppen durch lediglich etwa 2.8 Å getrennt sind, unerheblich ist, was zu einer Art Hybridzustand zwischen den beiden Resten führt.<sup>[6]</sup> Somit könnten zwei Aminosäuren tatsächlich stark koppeln, doch nur bei extremen Ramachandran-Winkeln. Für eine starke Kopplung müssen wir eine extreme Rotationsauslenkung der relativen Rotationswinkel betrachten. Dementsprechend bezeichnen wir dieses Modell als Zwei-Stufen-Modell, bei dem zuerst eine Rotation und anschließend die Ladungsübertragung erfolgt, d. h., wir haben es mit einem difunktionalen Modell zu tun. Genauere Rechnungen an Pentaglycin haben kürzlich bestätigt, dass die Sprungwahrscheinlichkeit der Ladung in einer vollständig quantenmechanischen Rechnung stark mit der Anordnung der CO-Gruppen korreliert.<sup>[6,92]</sup>

Wir führten Moleküldynamik(MD)-Simulationen für die Veränderungen dieser Winkel durch, um die mittlere Zeit zu bestimmen, zu der erstmals die energiearme, nahezu entartete Konformation durch Rotation der Ramachandran-Winkel erreicht wird (mittlere first passage time). Wir nahmen dann an, dass der Ladungstransfer (CT) zum nächstniedrigeren Energieniveau stattfindet, wenn die Winkel diese entscheidende Konformation einnehmen, in der die benachbarten Carbonylgruppen etwa 2.8 Å voneinander entfernt sind. Bei der Simulation wurde eine Variante der üblichen MD-Rechnung angewendet. Gewöhnlich werden in MD-Rechnungen alle Bewegungen zur gleichen Zeit ausgelöst, in unserer Variante aktivieren wir jedoch die Energie an einer bestimmten Stelle, gewöhnlich am C-Terminus, und beobachten die zeitliche Entwicklung dieser lokalen Anregung. Dazu mussten wir den Code des verwendeten Programms CHARMM 24<sup>[93]</sup> modifizieren.<sup>[11]</sup> Von Interesse ist dabei die Zeit, die zwei benachbarte CO-Gruppen an einem gemeinsamen  $C_{\alpha}$ -Atom einer einzelnen Aminosäure im Peptid für die Rotation um ihre Ramachandran-Winkel benötigen, bis erstmals eine kritische Entfernung (ca. 2.8 Å) zwischen den Sauerstoffatomen erreicht ist, bei der die starke Kopplung zur RC-Übertragung<sup>[6,8]</sup> führt (Abbildung 4) – die mittlere first passage time. Wir schlugen vor, dass andere Winkel für die Übertragung ineffizient sind. Entscheidend für den Mechanismus ist somit, dass bei typischen Peptidwinkeln kaum Transport stattfindet, ein leichtes mechanisches Rotieren der Peptidkette entlang der Ramachandran-Winkel hingegen einen hocheffizienten Ladungstransfer bei einem energetisch nahezu entarteten Zustand auslöst.

Das interessante Ergebnis dieser MD-Rechnungen ist, dass die mittlere first passage time für Peptidrotationen für einen einzelnen Transferschritt im Fall einfacher Peptide eine genaue, sehr kurze Zeitspanne von 100–150 fs ist und damit einen allgemeinen, schnellen Teilprozess für Proteinbewegungen darstellt (Abbildung 5). Eine so kurze Zeitspanne ist zunächst überraschend, allerdings haben Hamm et al. 2001 experimentell einen sehr ähnlichen Wert von 120 fs für ein



**Abbildung 4.** Mementaufnahmen bis zum Erreichen einer kritischen Entfernung und RC-Übertragung im Fall von Gly<sub>3</sub> (grün C, H<sub>C</sub>; blau N, H<sub>N</sub>; rot O). Eine Moleküldynamiksimulation wurde für das kurze Peptid bei 1667 K, d.h. 150 meV durchgeführt.



**Abbildung 5.** Typische mittlere Verteilung der first passage time zum Erreichen der Position zum „Abfeuern“ der Ladung zwischen benachbarten Resten bei 100–150 fs. Dem steilen Beginn durch lokale Erhitzung folgt eine Schwanzbildung, die aus dem thermischen Rauschen aufgrund der einsetzenden Schwingungsmoden resultiert. Es wird hier eine kurze Polypeptidkette von zehn Gly eingesetzt und eine Moleküldynamiksimulation unter globaler Aufheizung des Moleküls durchgeführt.<sup>[8]</sup> Anschließend wird die Verteilung der first passage time in Abhängigkeit von der Zeit des Zusammenstoßes der CO-Gruppen um das dritte C<sub>α</sub>-Atom der Polypeptidkette bestimmt.

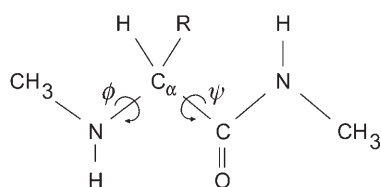
Tripeptid direkt bestimmt.<sup>[61]</sup> Diese Übereinstimmung des Experiments mit unseren MD-Rechnungen ist sehr vielversprechend. Diese Zeitspanne kann für komplexere Systeme variieren, scheint aber dennoch viel kürzer als diejenige zu

sein, die für eine normale IVR benötigt wird: Diese wurde für chemisch reagierende Systeme zuerst von Rabinovitch et al. zu etwa 1–2 ps bestimmt<sup>[94,95]</sup> (und ist bei niedrigen Anregungsenergien sogar noch länger).<sup>[51]</sup> Die Zeit für anharmonisch gekoppelte IVR kann zwar bis zu 300 fs kurz sein,<sup>[96]</sup> was aber immer noch länger als die Zeitdauer der hier betrachteten Rotationen ist. Diese frühe, noch schwache Kopplung mit den Schwingungen des Peptids kann eine weitere Möglichkeit sein, die große Zahl an Freiheitsgraden, die zur Dissipation der Anfangsanregung führen würde, zumindest in Segmenten der Peptidkette zu vermeiden. Auf einzigartige Weise werden hier nur wenige Freiheitsgrade auf der Sub-Pikosekunden-Zeitskala gekoppelt. In einem solch stark reduzierten Phasenraum finden wir hocheffiziente, schnelle Bewegung mit noch wenig Energiedissipation. Wir nehmen an, dass diese hocheffiziente Bewegung in Peptiden auf der sehr kurzen Sub-Pikosekunden-Zeitskala ein wichtiger Bestandteil der sehr frühen Dynamik von Proteinbewegungen ist, die zur langreichweitigen Reaktivität beiträgt. Diese sehr kleine Zeitskala in einem reduzierten Phasenraum könnte für das Auffinden stabiler, sogar nahezu natürlicher Konformationen in Teilabschnitten zu einem sehr frühen Zeitpunkt während der Entstehung eines Proteinsystems von Interesse sein. Diese Teilabschnitte könnten in Form von Sektionen oder Domänen miteinander wechselwirken und so schließlich zu makroskopischen Proteinbewegungen führen.

Diese sehr kurze Zeit für die Rotation einer Aminosäure im Peptid, bis eine effiziente Kopplung mit der nächsten Aminosäure erreicht ist, wird als die mechanistische Vorstufe für die effiziente Ladungsübertragung angesehen. Wir nehmen an, dass die leichte Ladungsmobilität durch die Rotation bis hin zu dieser entscheidenden Konformation verursacht wird. Umgekehrt müssen wir dann auch schlussfolgern, dass bei Verhinderung dieser Weiterleitung keine Ladungsübertragung stattfindet. Befindet sich das Peptid in einer starren Umgebung, sollte keine Weiterleitung über diesen Mechanismus möglich sein.<sup>[97]</sup> Es ließe sich nun spekulieren, welche Umgebungen für den Ladungstransport in biologischen Systemen nachteilig sein könnten (siehe Abschnitt 6).

## 2. Energetik

Sind die Reste nicht identisch, müssen weitere energetische Aspekte berücksichtigt werden, da selbst die korrekte Rotation einen energetisch bevorzugten Weg zur Übertragung finden muss. Am einfachsten kann angenommen werden, dass jeder Rest eine bestimmte Energie hat, die nur lose an die anderen Reste gekoppelt ist. Dieses schwach gekoppelte System ist sinnvoll als erster Ansatz. Zur Abschätzung dieser einzelnen Energien könnten wir die Ionisierungsenergie einer jeden Aminosäure betrachten. Dies ist allerdings selbst für das isolierte Molekül in der Gasphase nicht völlig genau, da sich jeder Rest in einer chemischen Umgebung befindet, die sich stark von der einer isolierten Aminosäure unterscheidet. Insbesondere sind die Nachbargruppen normalerweise keine Säuregruppen usw. Somit müssen selbst einfache Modellrechnungen eine neutralisierte Umgebung annehmen (Abbildung 6).



**Abbildung 6.** Modellverbindung, die zur Berechnung des IP eines Aminosäurerests innerhalb eines Peptids verwendet wurde.  $\psi$  und  $\phi$  sind die Ramachandran-Winkel.

Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass die Ionisierung eines bestimmten Restes in der Peptidumgebung anders verläuft als die Ionisierung der entsprechenden isolierten Aminosäure, bei der das Elektron bis ins Unendliche entfernt wird. Die Ionisierung entlang der Kette verläuft zu CT-Zuständen, bei denen die Ladung nicht ins Unendliche entfernt wird. Diese Zustände liegen gewöhnlich etwa 1 eV unterhalb der Standardionisierungsenergien für die isolierten Aminosäuren. Nichtsdestoweniger wird der Transport hier im Wesentlichen durch variierende lokale Energien gesteuert, ein Modell, das unsere Ergebnisse grob zu erklären scheint. Dies ist ein wertvolles Modell für den Ladungstransport in solchen Peptidionen und könnte sich möglicherweise auch auf große Molekülfragmente, wie sie z. B. in einem Massenspektrometer beobachtet werden, anwenden lassen.

Damit haben wir nun ein difunktionales Modell zur Hand, das den CT entlang der Polypeptidkette vom C-Terminus zum N-Terminus beschreibt. An jedem  $C_\alpha$ -Atom gibt es sowohl eine N-Seite als auch eine C-Seite. Die Torsionswinkel um die  $C_\alpha$ -Drehachse sind in bestimmten Domänen innerhalb des Phasenraums ( $\psi$ ,  $\phi$ ) eingeschränkt, der im Ramachandran-Diagramm dargestellt ist. Unterschiedliche Aminosäurepaare der  $\alpha$ -Helix und des  $\beta$ -Faltblatts belegen verschiedene Bereiche im Ramachandran-Diagramm. Wenn die Ladung lokal auf der C-Seite eines  $C_\alpha$ -Atoms angeregt wird, springt sie durch den anschließenden O-O-Atomzusammenstoß in der Nähe des  $C_\alpha$ -Atoms zu dessen nahe gelegener N-Seite. Dieser Sprungprozess kann weniger als 10 fs beanspruchen. Die Torsionsbewegungen der Carbonylgruppen für die  $\psi$ - und  $\phi$ -Winkel benötigen jeweils etwa 150 fs, wobei diese Zeiten jedoch in Abhängigkeit von den verschiedenen Ausgangskonformationen variieren und daher nicht miteinander korrelieren. Daher deuten wir diese Rotationsbewegungen als ein virtuelles Brownsches Teilchen, das sich innerhalb des Bereichs mit nahezu freier Bewegung im Ramachandran-Diagramm bewegt.<sup>[8]</sup> Die O-O-Atome stoßen bei einem bestimmten Abstand (z. B. bei 2.8 Å) zusammen, und das virtuelle Brownsche Teilchen erreicht im Ramachandran-Diagramm einen festgelegten Punkt, der einen Ausgang zum Entweichen des Brownschen Teilchens definiert. Dieser Punkt wird durch die Brownsche Rotationsbewegung erreicht. So entsteht ein quasi-entarteter Zustand, in dem dann ein schneller Ladungstransfer stattfindet. Dieser Ladungstransfer erfolgt, sobald der C-O-Abstand erreicht ist, im Wesentlichen elektronisch unverzögert auf der Zeitskala der Brownschen Bewegung. Daher entspricht die sequenzielle Weitergabe der Ladung entlang einer Polypeptidkette einer

Folgekombination von 1) Entweichen des Brownschen Teilchens und 2) Sprung der Ladung.

Bei einem beispielhaften Vergleich der experimentellen Befunde für Leu-Leu-Leu-Trp mit Gly-Gly-Gly-Trp beobachten wir, dass Leu-Leu-Leu-Trp die Ladung von einem ionisierten Trp vollständig zum N-terminalen Leu leitet, während im Fall von Gly-Gly-Gly-Trp überhaupt kein Transport stattfindet.<sup>[1,2]</sup> Dies kann einem kleinen Unterschied der CT-Energien von Leu und Gly zugeschrieben werden, wobei die Energie für Leu etwa 0.2 eV niedriger ist. Da die Energie für Trp dazwischen liegt, ermöglicht der Austausch von Trp gegen das energetisch höher liegende Tyr in beiden Fällen einen vollständigen Transport. Diese beiden Peptide sind nur zwei Vertreter einer beträchtlichen Zahl an untersuchten Peptiden.<sup>[1,2]</sup>

Der leichte Ladungstransport resultiert in einer chemischen Reaktion, die an einem von der Ionisierungsstelle weit entfernten Ort stattfindet. Mit anderen Worten erfolgt eine Übertragung sowohl der Reaktivität als auch der Ladung. Für diese so genannte RC-Übertragung müssen zwei Bedingungen erfüllt sein: 1) Die ultraschnelle Bewegung der Diederwinkel hin zum Zustand, in dem die Ladung übertragen wird, darf nicht behindert werden; 2) die Energetik muss an dieser Stelle günstig sein. Dies unterscheidet sich von der typischen Kinetik lokaler chemischer Reaktionen. Die Anregung erfolgt in unserem System an einem Ende und die chemische Reaktion läuft als Folge von Ladungstransport am anderen Ende ab.

Welche Rolle spielen nun die normalen, unimolekularen Prozesse in Peptiden? Solche Prozesse finden natürlich dennoch statt, allerdings auf einer viel größeren Zeitskala, wie für kleinere Peptide in der Gasphase von Lifshitz et al.<sup>[46,98]</sup> nachgewiesen wurde. Sie bewiesen, dass sowohl Leu-Tyr als auch Leu-Leu-Tyr nach IVR normale chemische unimolekulare Reaktionen eingehen können, wenngleich viel langsamer. Die Geschwindigkeitskonstanten liegen dann im von der Theorie von Rice, Ramsperger, Kassel und Marcus vorhergesagten Bereich.<sup>[42]</sup> Das Extrapolieren dieser Zeiten auf unsere größeren Systeme würde zu Reaktionszeiten von ca. 0.1 s führen, die in unserer Apparatur nicht beobachtet werden können und mit strahlendem Zerfall konkurrieren würden. Wir nehmen an, dass wir es zum einen mit einem stark verringerten Phasenraum bei kurzen Zeiten und zum anderen mit einem normalen, größeren Phasenraum nach der IVR zu tun haben. Für Peptide mit niedrigen Anregungsenergien, wie sie in biologischen Systemen gefunden werden, erfolgt vor der IVR eine ultraschnelle RC-Übertragung entlang der Kette zu einem energiearmen Rest.<sup>[53,99]</sup> Dieser Prozess verläuft wegen des sehr kleinen Phasenraums äußerst effizient.

Betrachten wir nun eine Energiefläche im Peptid, die nicht eben ist, sondern einige ausgeprägte Energiekonturen aufweist. Als Beispiel soll der gemischte Fall von Leu-Gly-Leu-Trp dienen. Wir beobachten wieder eine äußerst effiziente RC-Übertragung ausgehend vom C-Terminus, doch interessanterweise nur bis zum Gly-Rest. Diese energiereiche Position wirkt nun als „Flaschenhals“ für die RC-Übertragung. Obwohl der N-Terminus die niedrigste Energie in der Kette aufweist, ist er nicht der Endpunkt der RC-Übertra-

gung. Folglich wählt dieser Mechanismus nicht den energieärmsten Endzustand aus, wie in der normalen statistischen Kinetik – vielmehr führt die Engstelle entlang des Wegs zur Unterbrechung des Übertragungsprozesses. Das Experiment zeigt außerdem, dass die RC-Übertragung entlang der Peptidkette erfolgt und nicht durch einen anderen Prozess.

Dieser Ablauf über große Entfernungen mit einem derart stark reduzierten Phasenraum ist ein Prozess, der vielleicht nur bei Polypeptiden auftritt und durch die ultraschnellen, großamplitudigen Veränderungen der Ramachandran-Winkel gegeben ist, wodurch IVR und ebenso lokale elektronische Energien überspielt werden.

Wenn wir diese Denkweise auf Photoionisierungsdaten aus der Massenspektrometrie von Peptiden anwenden, stellen wir fest, dass auch hier Reaktivität im Ion über beträchtliche Entfernungen transportiert wird und so zur Bildung der vielen beobachteten Fragmente führt. Ein statistischer Prozess wäre nicht dazu in der Lage, in der Zeitskala eines typischen Massenspektrometers eine derartige, erhebliche Fragmentierung großer Ionen so weit entfernt von der Anregungsstelle zu bewirken.<sup>[100]</sup>

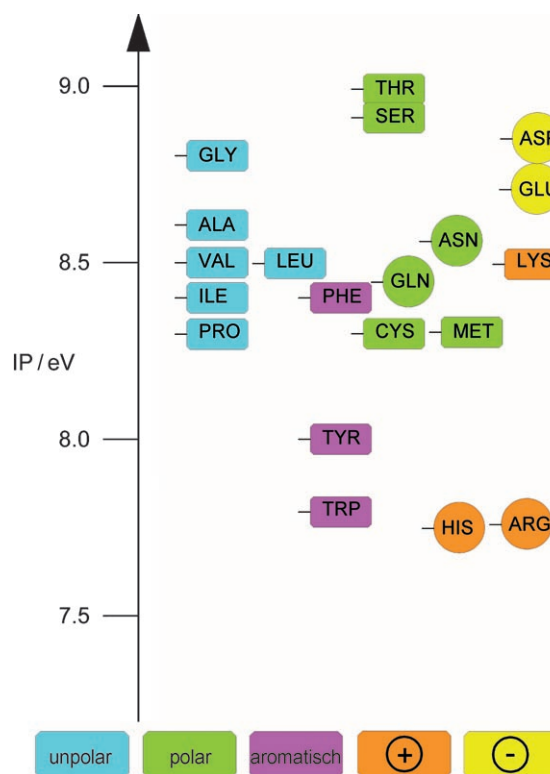
### 3. Rechnungen

Für Peptide sind viele Anregungsmöglichkeiten, z.B. durch Redoxreaktionen, vorstellbar, hier allerdings wollen wir den einfachen Prozess der direkten Photoionisierung betrachten, und das auch nur am C-terminalen Ende des Peptids. Zur Bestimmung der lokalen Energien ermittelten wir die Ionisierungsenergien der 20 natürlichen Aminosäuren. Nur vierzehn Werte wurden experimentell bestimmt, für die restlichen sechs Aminosäuren führten wir eine Ab-initio-Rechnung durch (Abbildung 7). Dazu nutzten wir ein DFT-Programm<sup>[101]</sup> unter Verwendung der B3LYP-Methode und eines 6-31 + G\*-Basissatzes. Es ergab sich, dass Gly, wie von dem Modell gefordert, tatsächlich 0.2 eV über Leu liegt.

Die zunächst photoionisierte Aminosäure, hier Trp, ist ein Spezialfall, da die Ionisierung an dieser Stelle das Elektron bis ins Unendliche entfernt, während alle weiteren lokalen Ionisierungen CT-Zustände sind. Dies zeigt sich bereits beim Dimer Leu-Trp, wo die Ladung leicht zum Leu wandert. Außerdem ist dieser Transfer, sogar nach Abschalten des Lasers, stabil und offenbar irreversibel, selbst über eine Dauer von 10 ms.<sup>[46]</sup>

Die Ionisierung eines Trp wird allein nur über den optischen Übergang im Benzolteil bei 260 nm hervorgerufen, und es wird eine Ionisierungsenergie erwartet, die der Ionisierungsenergie der isolierten Aminosäure sehr nahe kommt. Diese Ionisierungsenergie ist diejenige Energie, die zur Bildung einer positiven Ladung am Molekül und gleichzeitigen Entfernung des Elektrons ins Unendliche notwendig ist. Unter der Annahme, dass diese Energie näherungsweise der Ionisierungsenergie der isolierten Aminosäure entspricht, ist die Energetik für die beschriebenen Prozesse in Abbildung 7 angegeben.

Aus Leu-Trp würde Leu-Trp<sup>+</sup> entstehen. Es wäre nun vorstellbar, dass die Ladung anschließend von Trp zu Leu springt. Die dafür aufgewendete Energie unterscheidet sich

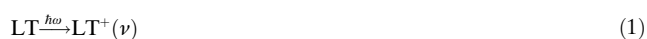


**Abbildung 7.** Ionisierungspotentiale von Aminosäuren; □ experimenteller Wert, ○ berechneter Wert (B3LYP/G-31 + G\*) mit optimierter Geometrie. Entlang der x-Achse sind die polaren, aromatischen, kationischen und anionischen Spezies angeordnet.

von derjenigen zur Entfernung des Elektrons von einer dieser zwei Positionen, denn nun muss das Elektron nicht bis ins Unendliche bewegt werden, sondern lediglich zur anderen Position. Mithilfe eines einfachen Coulomb-Modells kann die Energieeinsparung zu etwa 1 eV berechnet werden; sämtliche weiteren Positionen in der Kette nach der ersten sind dann CT-Positionen. Damit haben wir nun den Leu<sup>+</sup>-Trp-Zustand erreicht.

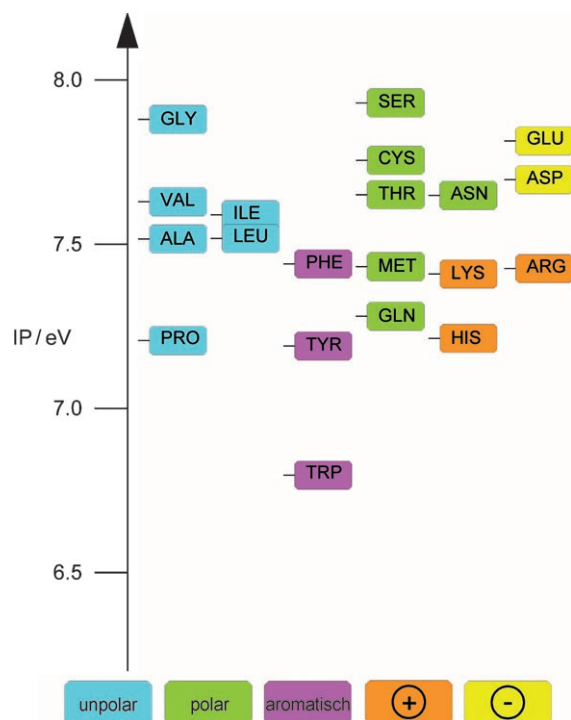
Wenn wir eine DFT-Rechnung am Tripeptid Leu<sub>2</sub>Trp durchführen, erhalten wir eine vertikale Ionisierungsenergie von nahezu 7.8 eV, während die adiabatische Energie fast 7.0 eV beträgt. Für eine Modellierung müssen daher die prototypischen Ionisierungsenergien der Aminosäuren berechnet werden, die in einer Pseudo-Peptidumgebung eingeschlossen sind (Abbildung 6). Diese Energien liegen tatsächlich alle etwa 1 eV niedriger als die der isolierten Aminosäuren. Dies bedeutet, dass der niedrigste Energiezustand ein adiabatischer Zustand ist, der durch den vertikalen Prozess, trotz niedrigerer Energie, nicht leicht erreichbar ist.

Als grobe Vereinfachung setzen wir für die erste Position die vertikale Ionisierungsenergie der isolierten Aminosäure und für alle folgenden Positionen die CT-Energien ein. Wir betrachten ein Dimer von Leu und Trp (LT) und nehmen an, dass die Wellenlänge und Intensität des Lasers so gewählt werden, dass Trp in LT ionisiert wird [Gl. (1)].





$LT^+(\nu)$  entspricht dem vertikalen Ionisierungszustand, der durch den Franck-Condon-Übergang bestimmt ist. Aus Abbildung 7 geht hervor, dass das Energieminimum etwa 7.8 eV für  $LT^+(\nu)$  beträgt, und aus Abbildung 8, dass die



**Abbildung 8.** Ionisierungspotentiale von Aminosäureresten innerhalb eines Peptids, das aus der Modellverbindung berechnet wurde, in der sich die Aminosäure in einer Pseudo-Peptidumgebung befindet. Der Basissatz und die Spezies sind die gleichen wie bei Abbildung 7.

adiabatische Ionisierungsenergie nur 6.8 eV für  $LT^+(a)$  beträgt ( $a$ =adiabatisch). Da  $LT^+(a)$  nur eine Energie von 7.5 eV aufweist (Abbildung 8), kann der CT gemäß Gleichung (2) stattfinden.

$$LT^+(\nu) \rightarrow LT^+(a) \quad (2)$$

Zur Berechnung dieser adiabatischen Energien wurde die Aminosäure in eine typische Umgebung versetzt (Abbildung 6). Auf diese Weise berechneten wir eine Reihe von adiabatischen Energien für die 20 Aminosäuren (Abbildung 8). Typischerweise liegen diese Energien alle etwa 1 eV niedriger als die vertikalen Ionisierungsenergien in Abbildung 7. Wenn wir nun das Ionisierungspotential (IP) von Trp in Abbildung 7 mit den adiabatischen Energien in Abbildung 8 vergleichen, wird deutlich, dass der Wert für Trp genau zwischen den Werten von Gly und Leu liegt. Daraus kann ein Ladungstransport zu Leu vorhergesagt werden, nicht jedoch – übereinstimmend mit unserer Beobachtung – zu Gly. Die Absorption zum adiabatischen Zustand von Trp (Abbildung 8) ist der niedrigste Energiezustand des Systems, weist jedoch für ein normales Absorptionsexperiment zu wenig Oszillatorstärke auf. Es ist allerdings anzunehmen, dass durch eine Absorption mit einem kleinen Querschnitt dieser Zu-

stand von Trp im Peptid auch erreicht wird, und dieser ist dann der niedrigste Zustand des gesamten Systems. Aus diesem Zustand ist kein CT möglich.

Es ist entscheidend, dass der Elektronentransfer (ET) in Gleichung (2) vor der IVR stattfindet. Daher sollte der ET in Gleichung (2) durch eine Ein-Niveau-ET-Geschwindigkeitskonstante  $W_{iv}$  beschrieben werden. Ist der ET viel langsamer als die IVR, sodass anstelle eines ET das Schwingungsgleichgewicht eingestellt wird, erhalten wir die mikrokanonische ET-Geschwindigkeitskonstante  $W(E)$  [Gl. (3)], wobei  $E$  die Anregungsenergie des Systems und  $P_{iv}(E)$  die mikrokanonische Verteilung ist [Gl. (4)].  $\delta(E-E_{iv})$  ist die Delta-Funktion und  $\rho_i(E)$  die Zustandsdichte mit der Energie  $E$  [Gl. (5)]. Gleichung (3) zeigt, dass IVR die Anregungsenergie über alle Schwingungszustände gleicher Energie verteilt. Jeder Zustand ist gleich wahrscheinlich und wird durch  $P_{iv}(E)$  beschrieben. Die beobachtete Geschwindigkeit  $W(E)$  muss nun alle möglichen ET-Geschwindigkeitskonstanten  $W_{iv}$  einschließen, die durch ihre mikrokanonische Verteilung  $P_{iv}(E)$  bewertet werden. Mit anderen Worten wird IVR die ET-Geschwindigkeit verringern.

$$W(E) = \sum_{iv} P_{iv}(E) W_{iv} \quad (3)$$

$$P_{iv}(E) = \frac{\delta(E-E_{iv})}{\rho_i(E)} \quad (4)$$

$$\rho_i(E) = \sum_{iv} \delta(E-E_{iv}) \quad (5)$$

Diese Schlussfolgerungen für die RC-Übertragung sind zwar von allgemeiner Natur, aber es werden dennoch feine Unterschiede vorliegen, wenn die entsprechende Anregungsenergie aus Prozessen stammt, die keinem Photoionisierungsprozess entsprechen. Es ist zu beachten, dass der Rücktransfer zum adiabatischen Zustand des C-terminalen Trp nach dem Ladungstransfer zum N-terminalen Leu zu langsam verläuft und daher nicht begünstigt ist, da nun der bevorzugte Prozess eine lokale Dissoziation ist.

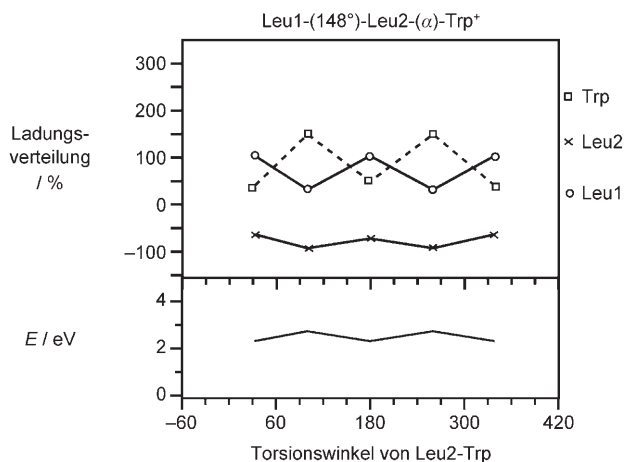
Der umgekehrte Ladungszustand, der etwa 1 eV unter dem  $Leu^+-Trp$ -Zustand liegt, führt zu einer beachtlichen Energielücke. Da dies alles Prozesse sind, die innerhalb elektronischer Übergänge strahlungslos verlaufen, können wir aus der Theorie der strahlungslosen Übergänge ableiten, dass sich die Lebensdauer des  $Leu^+-Trp$ -Zustands etwa mit der Energielücke erhöht,<sup>[65,102]</sup> entsprechend Gleichung (6),

$$W_{i0} = \frac{|T_{fi}|^2}{\hbar^2} \left( \frac{2\pi}{\omega_{if}\omega} \right)^{1/2} \exp \left[ -\frac{\omega_{if}}{\omega} \left( \ln \frac{\omega_{if}}{s\bar{\omega}} - 1 \right) - s \right] \quad (6)$$

wobei  $\omega_{if}$  die Energielücke,  $s$  den Huang-Rhys-Faktor,  $T_{fi}$  das elektronische Kopplungsmatrixelement,  $\omega$  die Anregungsfrequenz und  $\bar{\omega}$  die Durchschnittsfrequenz bezeichnet. Eine Lücke von 1 eV führt zu einer Lebensdauer von etwa 100 ns als Untergrenze; auf dieser Zeitskala kann der  $Leu^+-Trp$ -Zustand fragmentieren. Experimente zu  $Leu-Tyr$  zeigen, dass die Ladung im Dimer an der  $Leu$ -Position verbleibt.<sup>[46]</sup>

Eine detailliertere Dichtefunktionalrechnung für  $Leu_2Trp$  liefert einen vom Torsionswinkel abhängigen CT-Prozess, der

unser difunktionales Modell stützt. In Abbildung 9 ist der Winkel zwischen der Leu1-CO-Gruppe und der Leu2-CO-Gruppe fixiert, und die Veränderung des Winkels zwischen der Leu2-CO-Gruppe und der Trp-CO-Gruppe löst eine Änderung der Ladungsverteilung aus. Der mittlere Rest wirkt als Schalter. Die Ladung kann erst bei einem bestimmten Torsionswinkel übertragen werden.



**Abbildung 9.** Ladungsverteilung im Tripeptid Leu-Leu-Trp als Funktion des Torsionswinkels  $\alpha$  (Leu2-Trp). Der untere Teil der Abbildung zeigt die relative Energie des Systems. Es wird hier die Mulliken-Population des Leu-Leu-Trp-Kations berechnet. Der Winkel zwischen der Leu1-CO-Gruppe und der Leu2-CO-Gruppe ist auf  $148^\circ$  fixiert. Die Winkel zwischen der Leu2-CO-Gruppe und der Trp-CO-Gruppe sind für ein variables  $\alpha$  aufgetragen. Diese Winkel sind bei der Energieminimierung der Peptidkonformation festgelegt. Die Alternierung der Ladungsverteilung bei Veränderung des Winkels zeigt, dass der Ladungstransfer auf der Torsionsbewegung der Ramachandran-Winkel basiert.

Eine Dichtefunktionalrechnung in der Gasphase bestärkt uns in der Aufstellung eines allgemeineren Modells, das eine intrinsische Polypeptid-Rückbindungs-dynamik einschließt. Dieses difunktionale Modell sollte das Verhalten in der Gas- und Flüssigphase abdecken und erfasst nicht nur die Bindungs-dynamik, sondern auch Einflüsse der Umgebung, z.B. Einschränkungen der Bindungs-dynamik. Auf einer derart kleinen Zeitskala wird Wasser zu einem großen Hindernis und führt daher zu einer starken Reduzierung der CT-Effizienz. Interessanterweise ist dies nicht der Fall für Lipide; erste Rechnungen für eine Lipid-Umgebung ergeben viel höhere Effizienzen.<sup>[103]</sup>

#### 4. MD-Simulation und Verteilung der mittleren first passage time

In vielen Transmembranproteinen verläuft der CT-Prozess mit einem Energiegradienten von ca. 0.4 eV. Diese Energie erfordert eine erhebliche treibende Kraft für die Weitergabe der Ladung von einer Aminosäure zu anderen. In unserem difunktionalen Modell wird diese Energie zur Carbonylgruppe der N-Seite des  $C_\alpha$ -Atoms geliefert, anschließend erfolgt die Torsionsbewegung, und das virtuelle

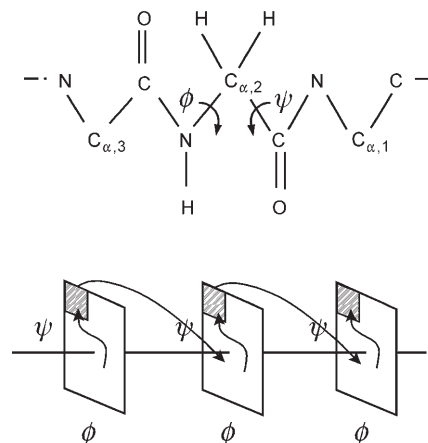
Brownsche Teilchen kann sich dadurch innerhalb des Ramachandran-Diagramms bewegen. Diese Energiebarriere ist nur an bestimmten Orten auf nahezu null reduziert.

Unser difunktionales Modell besteht aus einem Warte- und einem Auslöseprozess. Der wichtigste Aspekt ist hier die Eintragung der Energie in die Rotationsfreiheitsgrade, damit die Rotationsbewegung der Carbonylgruppe angetrieben wird, bevor die Schwingungsbewegung der Polypeptidhauptkette einsetzt. Der O-O-Atomzusammenstoß sollte effizient sein. Wie bekannt ist, wird die Schwingungsbewegung durch IVR nach einigen Pikosekunden dissipiert. Daher wird die Rotationsenergie nach mehreren (z.B. ca. fünf) aufeinander folgenden O-O-Zusammenstößen auch hier dissipiert.

Wie in Abschnitt 2 ausgeführt, verlaufen Ladungstransfer und Entweichen des Brownschen Teilchens auf unterschiedlichen Zeitskalen. Die Hintergrundkettenbewegung ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Die Rechenmethode für dieses difunktionale Modell ist eine klassische Moleküldynamiksimulation. Wir lösen den Prozess durch Rotieren der  $C_\alpha C$ -Achse mit einer treibenden Energie von ca. 150 meV aus (Abbildung 10) und stellen die Frage nach der Effizienz für einen erfolgreichen O-O-Zusammenstoß. Wir schlagen folgende Definition für die Effizienz vor:

Effizienz = erfolgreiche Konformationen/gesamte Konformationen.

Wir führten die Simulation des O-O-Zusammenstoßes mit ca. 3000 Konformationen durch und ermittelten, dass es weniger erfolgreiche Konformationen zum entscheidenden Ab-



**Abbildung 10.** Sprungmechanismus in Abhängigkeit vom Diederwinkel der Reste. Wir können uns vorstellen, dass die Ladung zunächst ausgehend vom C-Terminus übertragen wird und an der C-Seite des  $C_\alpha$ -Atoms verbleibt. Die Carbonylgruppe der C-Seite wartet auf die Torsionsbewegung, bis sich die Carbonylgruppe von der N-Seite einem bestimmten Winkel nähert. Dann beginnt die Ladung zu springen. Dieser Prozess ist im unteren Teil dargestellt. Wir zeigen das Ramachandran-Diagramm für die einzelnen Aminosäuren im unteren Teil. Die Torsionsbewegung jeder Aminosäure ähnelt einem virtuellen Brownschen Teilchen, das sich in einem Phasenraum der Ramachandran-Winkel bewegt. Sobald dieses Brownsche Teilchen den Ausgangsteil (schattierte Fläche) erreicht, findet an dieser Stelle und zu diesem Zeitpunkt der Ladungstransfer statt. Diese Abbildung zeigt einen sequenziellen Fluchtprozess für unser difunktionales Modell.

stand gibt als gesamte Konformationen. Das Verhältnis gibt eine Effizienz an.

Mit dieser Effizienz können wir durch ein einfaches Argument eine Beziehung zum Abklingfaktor mit dem Abstand herstellen. Zuerst definieren wir die Geschwindigkeitskonstante  $k_t$  für den CT sowie eine Geschwindigkeitskonstante  $k_b$  für den Verlust an das Bad. Der Bruchteil der Ladung, der nach  $n$  verknüpften Aminosäuren noch vorhanden ist, kann nach Gleichung (7) ermittelt werden.

$$a^n = \left| \frac{k_t}{k_t + k_b} \right|^n \quad (7)$$

Diese Potenzform kann in die exponentielle Form  $e^{-\beta n}$  überführt werden, wobei  $\beta$  normalerweise  $0.8\text{--}1.4 \text{ \AA}^{-1}$  ist. Da die Länge jeder Aminosäure ca.  $3.7 \text{ \AA}$  beträgt, wird der abstandsabhängige Abklingfaktor als  $e^{-\beta R} = e^{-3.7\beta n}$  ausgedrückt. Wir können  $a^n = e^{n \ln a}$  anwenden, wobei  $a = k_t/(k_t + k_b)$  ist, um Gleichung 8 zu erhalten.

$$\beta = -\frac{\ln a}{3.7} \quad (8)$$

Wie aus Gleichung (8) hervorgeht, ist  $a$  die Effizienz, und wir erhalten den  $\beta$ -Wert des abstandsabhängigen Abklingfaktors. Ist der  $\beta$ -Wert klein, ist die CT-Effizienz groß. Ein sehr effizienter Transfer erfolgt in DNA, wo der  $\beta$ -Wert ca.  $0.2 \text{ \AA}^{-1}$  beträgt. Das Verhältnis  $k_b/k_t$  beträgt 1:1. Jetzt verlaufen beide Prozesse gleich schnell. Für  $\beta = 1.4 \text{ \AA}^{-1}$  erhält man  $k_b/k_t = 177$ . Das bedeutet, dass weniger als 1 % CT bei jedem Schritt dem normalen Wert von  $\beta$  entspricht.

In unserer Simulation wird ein für eine Einzelpositionsanregung modifiziertes CHARMM-24-Programm<sup>[9]</sup> eingeführt, um die in den vorhergehenden Abschnitten beschriebene Methode zur lokalen Aufheizung einzusetzen (Abbildung 5). Bei der nativen Anfangskonformation beeinflusst die Rotationsrichtung die mittlere freie Weglänge und somit die mittlere first passage time. Das Modell liefert eine unverzögerte treibende Energie zu einer einzelnen Position; diese Energie wird entlang der Polypeptidkette zur nächsten  $C_\alpha$ -Position übertragen. Anschließend folgen MD-Simulationen des CT von der isolierten Gasphase bis hin zum hydratisierten System.

## 5. Isoliertes System

Unser Massenspektrum von kurzen Polypeptidketten  $\text{Leu}_n\text{Trp}$  ( $n = 1\text{--}4$ )<sup>[1–3]</sup> zeigt nur den Peak des Moleküls und der N-Termini mit einer Gesamteffizienz von ca. 0.47. Es tritt kein weiterer Bindungsbruch bei den dazwischen liegenden Resten auf. Daher wird die Effizienz von 0.47 dem ersten Leu-Rest zugeordnet, und andere Reste haben eine Effizienz von nahezu eins. Diese Effizienz von nahezu eins lässt die Schlussfolgerung zu, dass die Energie hoch effizient übertragen wird. Da keine Energiedissipation auftritt, wird die Rotationsenergie infolge der Impulserhaltung vollständig auf die nächste Carbonylgruppe übertragen (Abbildung 10). Die Methode der lokalen Aufheizung ergibt, dass die verbleibenden Phononen die anschließende Bewegung, die zum

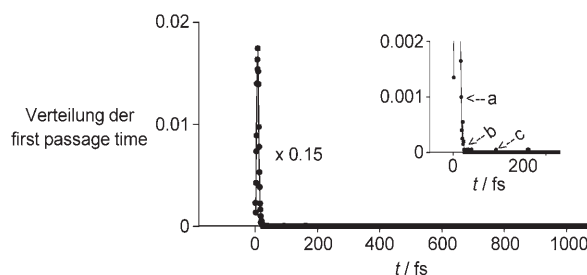
Ladungstransport führt, nicht beeinflussen. Die Ergebnisse in Tabelle 1 bestätigen diese hohe Effizienz zwischen benachbarten Aminosäuren und eine ballistische Bewegung im difunktionalen Modell.

**Tabelle 1:** Effizienz an jeder von der Stelle der lokalen Aufheizung entfernten Stelle.<sup>[a]</sup>

Rest-Nr. <sup>[b]</sup>	Effizienz	Rest-Nr. <sup>[b]</sup>	Effizienz
2	0.18	12	0.90
3	0.0033	13	0.46
4	0.41	14	0.22
5	0.29	15	0.22
6	0.25	16	0.084
7	0.40	17	0.11
8	0.69	18	0.013
9	0.85	19	0.025
10	1.0	20	0.26
11	0.78		

[a] Position der lokalen Aufheizung: Val10;  $T_{\text{lokal}} = 2667 \text{ K}$ .  $T_{\text{Hintergrund}} = 300 \text{ K}$ . [b] Mb<sub>20</sub> = (N-Terminus)Glu1-Asp2-Leu3-Lysn4-Lysn5-Hsd6-Gly7-Val8-Thr9-Val10-Leu11-Thr12-Ala13-Leu14-Gly15-Ala16-Ile17-Leu18-Lysn19-Lysn20(C-Terminus). Lysn = neutrales Lys.

In Tabelle 1 regen wir die C-Seite der  $C_\alpha$ -Position von Val<sub>10</sub> für das 20mere Polypeptid Mb<sub>20</sub> mit einer Anregungsenergie von 150 meV an. Dieses 20mer ist aus der  $\alpha$ -Helix des Myoglobinmoleküls herausgeschnitten. Die Effizienz ist selbst an der fünften Stelle von der Position der lokalen Aufheizung (Rest 15) hoch. An Rest 16 sinkt die Effizienz schlagartig ab. Bei Val<sub>10</sub> ist der mfp-Peak (mfp = mean first passage) sehr stark (Abbildung 11).



**Abbildung 11.** Verteilung der mittleren first passage time gegen die Zeit an Val10 für das 20mere Mb<sub>20</sub>. Dies ist die gleiche Peptidkette wie in Tabelle 1. Hier ist ein starker Peak sichtbar, der der Position der lokalen Aufheizung zugeordnet wird. Da es zwei Richtungen für die Rotation der CO-Gruppe gibt, ist die eine die Vorwärtsbewegung von niedriger zu höherer Aminosäurenummer und die andere die Rückwärtsbewegung von höherer zu niedrigerer Aminosäurenummer. Der Einschub zeigt drei kleine Peaks, von denen (a) der Vorwärtsbewegung direkt nach lokaler Aufheizung entspricht, (b) einer Rückwärtsbewegung und (c) der rekursiven Bewegung von der C- zur N-Seite.

## 6. Die wässrige Umgebung

Offensichtlich ist das vorgestellte Modell recht erfolgreich bei der Interpretation des hocheffizienten Transports einer Ladung über die Ionisierung am C-Terminus des isolierten Peptidmoleküls und deren Wanderung entlang der Kette. Wie sieht dies nun für den Fall der aus ähnlichen Experimenten

abgeleiteten, geringeren Leitfähigkeit in Wasser aus? In solchen Experimenten wird die negative Ladung gewöhnlich am einen Ende eines Donor-Acceptor-Redoxkomplexes eingeführt<sup>[26,35,36]</sup> und am anderen Ende wieder entfernt, wobei sie exponentiell mit der Distanz abnimmt und die Effizienz um etwa zwei Größenordnungen abfällt. In Anbetracht der großen Bedeutung von Wasser als Medium für biologische Prozesse muss dies ebenfalls für unseren Fall behandelt werden.

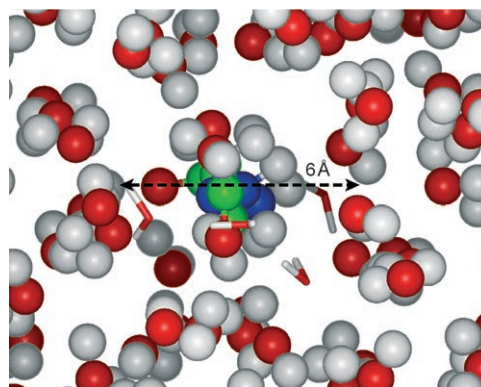
Die Leitfähigkeit von Proteinen in einem Wassermedium wurde von vielen Gruppen gemessen und ist durch den abstandsabhängigen Abfall der Ladung gekennzeichnet.<sup>[35,36]</sup> Dies wird durch die Exponentialfunktion (9) ausgedrückt,

$$Y = A e^{-\beta R} \quad (9)$$

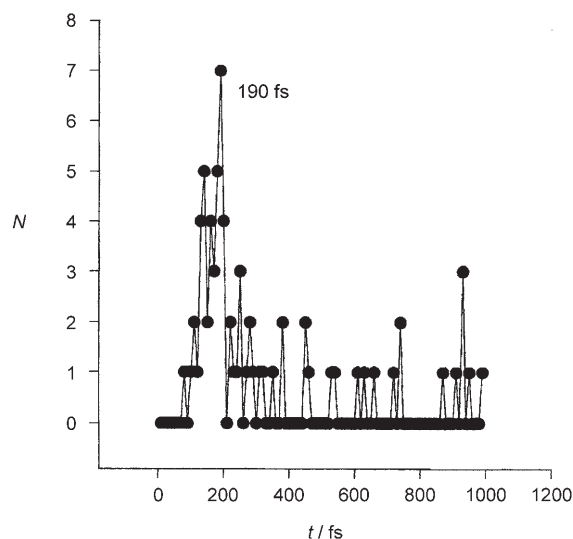
wobei  $\beta$  normalerweise  $1 \text{ \AA}^{-1}$  beträgt ( $Y$  = Ausbeute,  $A$  = molekularer Parameter,  $R$  =  $n$ -faches der Länge einer Aminosäure). Daraus leitet sich ab, dass das Signal/die Ladung nach einer Distanz von nur  $1 \text{ \AA}$  auf  $1/e$  abfällt. Wenn wir diese Information nun in das Modell für einen Sprung zwischen Aminosäurepositionen aufnehmen, führt dieser Abfall für ein normales Aminosäureintervall von  $R = 3.7 \text{ \AA}^{-1}$ , wie in Angiotensin, zu einer Sprungeffizienz von 3%. Dies bedeutet, dass bei jedem Sprung zur nächsten Position nur 3% der Energie transportiert werden, was offensichtlich nicht sehr effizient ist, besonders im Vergleich zur Effizienz im isolierten Molekül in der Gasphase von nahezu 100%. Es stellt sich daher die Frage, in welchem Ausmaß das isolierte Molekül unserer Untersuchungen durch das Medium beeinflusst werden würde. Erneut wurden MD-Rechnungen wie für die Gasphase angestellt, doch diesmal in einem Medium von etwa 500 einzelnen Wassermolekülen. Es wurde beobachtet, dass die Wasserumgebung die Proteinbeweglichkeit durch Schwächen des Wasserstoffbrückennetzes erleichtert,<sup>[12]</sup> allerdings bildet das Wasser einen Hohlraum um das Peptid. Eine solche Hülle ist zu träge, um auf die ultraschnellen Winkelbewegungen zu reagieren. Somit neigt Wasser zum Aufbau eines hydrophoben Käfigs, was zur Bildung einer fassartigen Struktur um das Peptid mit einer Öffnung von nur etwa  $6 \text{ \AA}$  führt (Abbildung 12).

Bei MD-Berechnungen unserer einfachen Peptide in Wasser wird dennoch eine ähnliche mittlere first passage time von etwa 150 fs beobachtet. Dies ist überraschend, da es bedeutet, dass die first passage time der Ramachandran-Rotationen im Peptid trotz starker Behinderung durch Wassermoleküle nicht wesentlich verändert wird (Abbildung 13). Bei Betrachtung der MD-Ergebnisse in Abbildung 13 wird allerdings ein beachtliches Rauschen in den vielen untersuchten Trajektorien deutlich. Dies resultiert aus der Tatsache, dass nur sehr wenige der vielen Trajektorien eine große Amplitude erzeugen, wie sie für den Ladungstransport zur nächsten Stelle benötigt wird. Somit wird in Wasser die first passage time zur Rotation kaum beeinträchtigt, dafür fällt jedoch die Effizienz drastisch ab.

Eine Abschätzung der Zahl der erfolgreichen Treffer im Verhältnis zur Zahl der Trajektorien zu Beginn jedes Laufs kann das MD-Programm liefern. Wir beobachten hier, dass nur etwa 2.8% der anfänglichen Trajektorien tatsächlich



**Abbildung 12.** Fassartige Anordnung von Wassermolekülen um Gly, mit einem Innendurchmesser von etwa  $6 \text{ \AA}$ . Gezeigt ist ein Wasserkäfig, der die Peptidkette umhüllt (rot O, weiß H, blau N, grün C). Diese Wassermoleküle umgeben die Peptidkette und verhindern die Rotationsbewegung um die Ramachandran-Winkel. Dies verringert die Effizienz des Ladungstransfers. Die Auswirkung der Lösungsmitteldynamik kommt bei etwa 100 fs zum Tragen.



**Abbildung 13.** Typische Verteilung der mittleren first passage time für den Auslösungsprozess zwischen angrenzenden Resten in Wasser am Beispiel einer in Wasser gelösten Gly<sub>3</sub>-Peptidkette;  $N$  = Zahl der O-O-Abstände von bis zu  $3 \text{ \AA}$ . Die Lage der Peaks ist wegen der durch den Wasserkäfig gehinderten Bewegung zu größeren  $t$ -Werten verschoben. Die mittlere first passage time ähnelt dem Wert in der Gasphase, allerdings bei stark verringerter Effizienz.

einen „Zusammenstoß“ durchlaufen, was das Rauschen in Abbildung 13 erklärt. Offenbar stört das in der MD-Struktur beobachtete hydrophobe „Fass“ die inneren, großamplitudigen Rotationen der Ramachandran-Bewegungen, was schließlich zur IVR-Dissipation für die meisten Ausgangstrajektorien führt, nicht aber den zeitlichen Verlauf betrifft. Nur wenige Trajektorien führen in diesen MD-Rechnungen zum Erreichen der nächsten Position. Dies führt zu einer Gesamteffizienz, die im gleichen Bereich wie diejenige in vorherigen Arbeiten zum Ladungstransport in Wasser liegt. Die Ineffizienz des Ladungstransports in Wasser resultiert direkt aus der Behinderung der Rotationsbewegungen der Diederwinkel durch die hydrophobe fassartige Anordnung



von Wassermolekülen. Es sollte erneut darauf hingewiesen werden, dass die Bewegungen der Diederwinkel im Sub-Pikosekundenbereich liegen – auf dieser Zeitskala ist die Hülle aus Wassermolekülen starr, da die Bewegungen der Wassermoleküle selbst auf einer größeren Zeitskala stattfinden.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Wasser hier zu einer problematischen Umgebung für die Ladungsübertragung wird. Für andere Prozesse in der Proteindynamik ist die Wasserumgebung dagegen hilfreich, ja sogar notwendig, da sie das Wasserstoffbrückennetzwerk und seine Dynamik stark beeinflusst.<sup>[15]</sup> Für die sehr schnelle RC-Übertragung in Wasser beträgt der vorhergesagte Wert 3 % Übertragung von einer Position zur nächsten und liegt damit interessanterweise im Bereich anderer Daten, in denen der  $\beta$ -Wert von ca.  $1 \text{ Å}^{-1}$  ein bekanntes experimentelles Ergebnis ist.<sup>[35,36]</sup> Die hier vorgestellte Arbeit bietet eine alternative Erklärung für den extremen Abfall der RC-Übertragung in Wasser, wenn man ihn mit unseren hocheffizienten Gasphasenergebnissen vergleicht. Die Ladungsweiterleitung in biologischen Systemen benötigt möglicherweise geschütztere und günstigere Umgebungen, z.B. Membranen. Die RC-Übertragung könnte in einer flexibleren Umgebung, z.B. in Lipiden, besser ablaufen.<sup>[103]</sup>

## 7. Sekundärstruktur

Überträgt man den experimentellen  $\beta$ -Wert in Effizienzwerte, ist das  $\beta$ -Faltblatt etwa dreimal effizienter als die  $\alpha$ -Helix. Interessanterweise fällt ein Vergleich der Effizienzen der natürlichen  $\alpha$ -Helix und des  $\beta$ -Faltblatts jedoch anders aus: Im Ramachandran-Diagramm werden nur sehr kleine Bewegungen für den Ladungstransport benötigt; dies wird durch die Nähe der Gruppen in der  $\alpha$ -Helix erleichtert, die sich sehr nah an der Auslösungsposition befinden.

Zur Erklärung der hohen Effizienz des  $\beta$ -Faltblatts haben wir die Verteilung der first passage time der starren  $\beta$ -Faltblattstruktur in Azurin untersucht. Wir beobachteten, dass das solvatisierte  $\beta$ -Faltblatt schwächere Wasserstoffbrücken aufweist als ein isoliertes  $\beta$ -Faltblatt. Im solvatisierten Fall werden die starken Wechselwirkungen zwischen den Ketten innerhalb des  $\beta$ -Faltblatts, die im isolierten System durch Wasserstoffbrücken verbunden sind, unterbrochen. Der  $\beta$ -Wert, der durch unsere Methode der lokalen Aufheizung erhalten wurde, beträgt  $1.3 \text{ Å}^{-1}$ , was mit den experimentellen Befunden für Azurin exakt übereinstimmt.<sup>[31]</sup>

## 8. Schlussfolgerungen

Wir analysieren hier Experimente zusammen mit einem theoretischen Modell für einen Vorgang, in dem die Anregung an einem Ende des Peptids stattfindet und die resultierende Ladung intakt bis zur Reaktion am anderen Ende des Peptids oder bis zur Blockierung in der Kette übertragen wird. Der Prozess involviert sehr schnelle, leichte Molekülbewegungen, die ausschließlich bei Peptiden zu finden sind. Solche Strukturen könnten auch zu einer interessanten neuen Klasse von elektronischen Baueinheiten führen.<sup>[63,104–106]</sup>

Wir schlagen vor, dass bei Peptiden die Veränderung der Diederwinkel zwischen benachbarten Aminosäuren eine der Hauptbewegungen für eine ultraschnelle Reaktion und Ladungsübertragung ist. Diese Bewegungen könnten für die sehr frühen Prozesse in der Proteindynamik von grundlegender Bedeutung sein. Eine Schwingungskopplung findet auf dieser Zeitskala noch nicht statt, sodass diese langreichweitige Dynamik resultierend aus dem stark reduzierten Phasenraum mit atypischer Leichtigkeit verläuft und daher hocheffizient und wenig dissipativ ist. Die sehr schnellen, großamplitudigen Veränderungen der Diederwinkel zwischen den Aminosäurepositionen sind ein Ergebnis von vernachlässigbaren Rotationspotentialbarrieren; dies ist ein besonderes Merkmal der Bewegungen der Ramachandran-Winkel in Proteinen. An den äußersten Positionen dieser Amplitudenbewegungen erfolgt die Kopplung der benachbarten Positionen sehr effizient. Hier liegt der Fall einer verzerrten Struktur vor, die energetisch, wie in einem  $sp^3$ -Hybrid, bevorzugt ist. Wir stellen fest, dass diese äußerste Position, und nicht die durchschnittliche Position, für die RC-Übertragung verantwortlich ist, da die Barrieren bei mittleren Winkeln zwischen den jeweiligen Positionen zu hoch für einen effizienten Transport sind.

Des Weiteren muss natürlich das Energieprofil entlang der Peptidkette günstig sein. Wir schlagen als erste Näherung eine Wechselwirkung voneinander unabhängiger Reste mit ihren eigenen, inhärenten Energien vor. Diese können mit einem angenäherten Modell bestimmt werden und sind hier tabellarisch aufgeführt (siehe Tabelle 1). Wir führen die Energie zusammen mit der Ladung am C-Terminus des Peptids ein (Abbildung 7), worauf die Energie auf CT-Zustände entlang der Kette übertragen wird (Abbildung 8). Auch eine andere Art der Eintragung von Ladung und Energie, z.B. in Form eines Redoxsystems, ist hier vorstellbar, solange sie in der Lage ist, die geringe erforderliche Energie von 150 meV zu produzieren.

Umgebungsfaktoren können diese großamplitudigen Bewegungen stören, was den Transport von Ladung und Reaktivität stark behindern kann; allerdings wird die mittlere first passage time offenbar selbst in Wasser nicht wesentlich beeinflusst. Volumenwasser ist für diesen sehr schnellen Prozess kein gutes Medium, während es für andere, langsamere Prozesse essenziell ist. Dieses Modell sagt vorher, dass Wasser die Effizienz des Transports um etwa zwei Größenordnungen herabsetzt; damit ist das hocheffiziente Gasphasenmodell in Einklang mit experimentellen Beobachtungen in Wasser. Das Modell kann eine Veränderung beim Signaltransport von mehr als zwei Größenordnungen, in Abhängigkeit von der Umgebung, relativ gut vorhersagen.

Im Umkehrschluss kann ein Peptid, das nicht rotieren kann, keine gute RC-Übertragung erzielen – jegliche Übertragung in einem starren Medium wird sehr ineffizient erfolgen. Damit stellt sich die Frage, welche Umgebung für den Ladungstransport in Peptiden günstig ist. Wie kürzlich gezeigt wurde, bieten Lipide eine derartige Umgebung.<sup>[103]</sup> Eine Reduzierung des Signal-/Ladungstransports in Proteinen in einer stark einschränkenden biologischen Umgebung könnte zu einer nennenswerten Unterdrückung biologischer Funktionen führen.

Das hier beschriebene Modell liefert zusammen mit den beschriebenen MD-Rechnungen ein Gesamtbild für die Chemie einfacher Peptide über große Reichweiten; dies ist von besonderem Interesse für das Verständnis von langreichweitigen Reaktionen, bei denen konventionelle Modelle der Reaktionskinetik versagen. Die grundlegende, äußerst schnelle RC-Übertragung wird in Experimenten zu Ausbeute<sup>[1,3]</sup> und der damit verbundenen Zeitskala<sup>[107]</sup> für ein isoliertes Molekül sowie in den Femtosekundenbewegungen einfacher Peptide beobachtet. Das Modell erklärt die hohe Effizienz in der Gasphase ebenso wie die stark reduzierte Effizienz in Wasser, wobei tatsächlich Effizienzwerte erhalten werden, wie sie für den Elektronentransport von Peptiden in Wasser beobachtet wurden. Dies ist ein erstes Modell der RC-Übertragung, die in Peptiden (und allgemein in biologischen Systemen) für den Transport von Ladung und Reaktivität über große Entfernungen verantwortlich ist. Ein solcher Prozess lässt sich kaum mit Theorien zur Kinetik kleiner Moleküle in Einklang bringen.

## 9. Nachwort

Manifestiert sich dieser schnelle Ladungstransport auch in weiteren Proteinbewegungen? Angesichts der Bedeutung von Ladungen in ribosomalen Proteinen könnte man annehmen, dass dieses Phänomen hier ebenfalls auftritt. Die Ladung würde dann den Sub-Pikosekunden-Energietransfer in einer Domäne begrenzter Größe bis hin zu einer Verbindungsstelle, z. B. einer Wasserstoffbrücke, ermöglichen. Die Einstellung des Gleichgewichts innerhalb dieser Domäne wäre somit bis zu dieser Wasserstoffbrücke sehr schnell. Dieser Prozess wäre für eine sehr kleine Zahl von Resten begünstigt, z. B. für eine  $\alpha$ -Helix, und würde auf diese Weise deren Bildung begünstigen; aus dieser  $\alpha$ -Helix können sich dann weitere Bewegungen und die Bildung größerer Domänen mit wiederum neuen Wasserstoffbrücken ergeben. Es ist bekannt, dass die Wasserstoffbrücke nicht stationär ist, sondern sich mit einer Durchlasszeit von etwa 10 ps öffnet,<sup>[15]</sup> was die Kopplung an die nächste Domäne ermöglicht, die dann zu einem neuen Zustand relaxieren kann. Damit haben wir ein System von Domänen variierender Größe, die sich jeweils in einem inneren Gleichgewicht befinden und über sich öffnende und schließende Durchlässe mit einer Öffnungszeit von 10 ps in zufälligen Intervallen miteinander koppeln. Diese Domänen können dann großamplitudige strukturelle Umordnungen durchlaufen. Die optimalen langreichweitigen Bewegungen solcher Domänen finden viel leichter statt als die Bewegungen aller Einzelatome,<sup>[90,108–111]</sup> was zu schnellen Gleichgewichten lokaler Strukturen führt, die dann in die langsameren Gerüstbewegungen einbezogen werden.

*Diese Arbeit wurde von NSC und DAAD im Rahmen eines deutsch-taiwanesischen Programms unterstützt. Ein Teil der Forschung wurde im Environmental Molecular Sciences Laboratory ausgeführt, einer nationalen wissenschaftlichen Benutzereinrichtung, die vom Department of Energy's Office of Biological and Environmental Research gefördert wird und sich am Pacific Northwest National Laboratory befindet.*

*Großer Dank gilt auch dem Fonds der Chemischen Industrie für die finanzielle Unterstützung. Wir danken den Professoren Saykally und Nitzan für das Lesen des Manuskripts und den Doktoren Baranov und Schanen sowie Professor Weinkauff für zahlreiche Diskussionen.*

Eingegangen am 25. April 2006,  
veränderte Fassung am 18. Oktober 2006  
Online veröffentlicht am 20. März 2007

Übersetzt von Dr. Ines Sprung, Edinburgh

- [1] R. Weinkauff, P. Schanen, D. Yang, S. Soukara, E. W. Schlag, *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 11 255.
- [2] R. Weinkauff, P. Schanen, A. Metsala, E. W. Schlag, M. Bürgle, H. Kessler, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 18 567.
- [3] F. Remacle, R. D. Levine, E. W. Schlag, R. Weinkauff, *J. Phys. Chem. A* **1999**, 103, 10 149.
- [4] F. Remacle, R. Weinkauff, D. Steinitz, K. L. Kompa, R. D. Levine, *Chem. Phys.* **2002**, 281, 363.
- [5] R. Weinkauff, E. W. Schlag, T. J. Martinez, R. D. Levine, *J. Phys. Chem.* **1997**, 101, 7 702.
- [6] L. Y. Baranov, E. W. Schlag, *Z. Naturforsch. A* **1999**, 54, 387.
- [7] F. Remacle, R. D. Levine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 6 793.
- [8] E. W. Schlag, S. Y. Sheu, D. Y. Yang, H. L. Selzle, S. H. Lin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 10 68.
- [9] E. W. Schlag, D. Y. Yang, S. Y. Sheu, H. L. Selzle, S. H. Lin, P. M. Rentzepis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 9 849.
- [10] E. W. Schlag, S. Y. Sheu, D. Y. Yang, H. L. Selzle, S. H. Lin, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104, 7 790.
- [11] S. Sheh Yi, E. W. Schlag, D.-Y. Yang, H. L. Selzle, *J. Phys. Chem. A* **2001**, 105, 6 353.
- [12] S. Y. Sheu, D. Y. Yang, H. L. Selzle, E. W. Schlag, *J. Phys. Chem. A* **2002**, 106, 9 390.
- [13] S. Y. Sheu, D. Y. Yang, H. L. Selzle, E. W. Schlag, *Eur. Phys. J. D* **2002**, 5, 557.
- [14] E. W. Schlag, S. Y. Sheu, H. L. Selzle, D. Y. Yang, *J. Chin. Chem. Soc.* **2006**, 53, 265.
- [15] S. Y. Sheu, D. Y. Yang, H. L. Selzle, E. W. Schlag, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 12 683.
- [16] R. D. Gorbunov, D. S. Kosov, G. Stock, *J. Chem. Phys.* **2005**, 122, 4 904.
- [17] R. E. Holmin, P. J. Dandliker, J. K. Barton, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2 830; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2 714.
- [18] C. Levinthal, *J. Chim. Phys.* **1968**, 65, 44.
- [19] C. Levinthal in *Mossbauer Spectroscopy in Biological Systems, Proceedings of a Meeting Held at Allerton House, Monicello, IL* (Hrsg.: J. T. P. De Brunner, E. Munck), University of Illinois Press, Urbana, **1969**, S. 22.
- [20] E. Rios, G. Pizarro, E. Stefani, *Annu. Rev. Physiol.* **1992**, 54, 109.
- [21] C. K. Mathews, K. E. v. Holde, K. G. Ahern, *Biochemistry, Bd. 15*, Addison Wesley Longman, New York, **2000**.
- [22] S. L. Mayo, W. R. Ellis, Jr., R. J. Crutchley, H. B. Gray, *Science* **1986**, 233, 948.
- [23] L. M. Utschig, M. C. Thurnauer, *Acc. Chem. Res.* **2004**, 37, 439.
- [24] M. Hervas, J. A. Navarro, M. A. D. La Rosa, *Acc. Chem. Res.* **2003**, 36, 798.
- [25] C. J. Murphy, M. R. Arkin, Y. Jenkins, N. D. Ghatlia, S. H. Bossmann, N. J. Turro, J. K. Barton, *Science* **1993**, 262, 10 25.
- [26] H. B. Gray, J. R. Winkler, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, 65, 537.
- [27] R. A. Malak, Z. Gao, J. F. Wishart, S. S. Isied, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13 888.
- [28] H. B. Gray, J. Halpern, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 3 533.

- [29] S. S. Skourtis, I. A. Balabin, T. Kawatsu, D. N. Beratan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3552.
- [30] O. Farver, G. W. Canters, I. van Amsterdam, I. Pecht, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 6757.
- [31] H. B. Gray, J. R. Winkler, *Q. Rev. Biophys.* **2003**, *36*, 341.
- [32] D. Laage, J. T. Hynes, *Science* **2006**, *311*, 832.
- [33] H. B. Gray, J. R. Winkler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3534.
- [34] B. G. Gerstman, P. P. Chapagain, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 054901.
- [35] J. R. Winkler, H. B. Gray, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, *2*, 399.
- [36] A. Ponce, H. B. Gray, J. R. Winkler, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8187.
- [37] N. Borovok, A. B. Kotlyar, I. Pecht, L. K. Skov, O. Farver, *FEBS Lett.* **1999**, *457*, 277.
- [38] O. Farver, J. Zhang, Q. Chi, I. Pecht, J. Ulstrup, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 4426.
- [39] S. Glasstone, K. J. Laidler, H. Eyring, *The Theory of Rate Processes*, McGraw-Hill Book Company, New York, **1941**.
- [40] K. J. Laidler, *Chemical Kinetics*, 3. Aufl., Harper & Row, New York, **1987**.
- [41] K. A. Holbrook, M. J. Pilling, S. H. Robertson, *Unimolecular Reactions*, Wiley, New York, **1996**.
- [42] T. Baer, W. L. Hase, *Unimolecular Reaction Dynamics: Theory and Experiments*, Oxford University Press, Oxford, **1996**.
- [43] B. S. Rabinovitch, E. W. Schlag, K. B. Wiberg, *J. Chem. Phys.* **1958**, *28*, 504.
- [44] B. S. Rabinovitch, E. Tschukow-Roux, E. W. Schlag, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 1081.
- [45] E. W. Schlag, B. S. Rabinovitch, *J. Opt. Soc. Am.* **1960**, *82*, 5996.
- [46] Y. Hu, B. Hadas, M. Davidovitz, B. Balta, C. Lifshitz, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 6507.
- [47] N. V. Dokholyan, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2006**, *16*, 79.
- [48] R. Zwanzig, A. Szabo, B. Bagchi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 20.
- [49] J. T. Ngo, J. Marks, M. Karplus, in *The Protein Folding Problem and Tertiary Structure Prediction* (Hrsg.: J. K. Merz, S. LeGrand), Birkhauser, Boston, **1994**, S. 433.
- [50] Y. Zhou, M. Karplus, *Nature* **1999**, *401*, 400.
- [51] M. Gruebele, P. G. Wolynes, *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 261.
- [52] J. S. Baskin, L. Banares, S. Pedersen, A. H. Zewail, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11920.
- [53] G. M. Stewart, J. D. McDonald, *J. Chem. Phys.* **1983**, *78*, 3907.
- [54] T. Kulp, R. Ruoff, G. Stewart, J. D. McDonald, *J. Chem. Phys.* **1984**, *80*, 5359.
- [55] R. A. Marcus, *J. Electroanal. Chem.* **2000**, *483*, 2.
- [56] F. D. Lewis, R. L. Letsinger, M. R. Wasielewski, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 159.
- [57] R. Langen, I. J. Chang, J. P. Germanas, J. H. Richards, J. R. Winkler, H. B. Gray, *Science* **1995**, *268*, 1733.
- [58] P. C. P. de Andrade, J. N. Onuchic, *J. Chem. Phys.* **1998**, *108*, 4292.
- [59] J. N. Onuchic, D. N. Beratan, *J. Chem. Phys.* **1990**, *92*, 722.
- [60] D. N. Beratan, J. N. Onuchic, J. N. Hopfield, *J. Chem. Phys.* **1987**, *88*, 4488.
- [61] S. Woutersen, Y. Mu, G. Stock, P. Hamm, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 11245.
- [62] S. Y. Sheu, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 104905.
- [63] J. M. Seminario, L. Yan, Y. Ma, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 9712.
- [64] M. R. Betancourt, J. Skolnick, *J. Mol. Biol.* **2004**, *342*, 635.
- [65] R. Engelman, J. Jortner, *Mol. Phys.* **1970**, *18*, 145.
- [66] J. Gumbart, Y. Wang, A. Aksimentiev, E. Tajkhorshid, K. Schulten, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2005**, *15*, 423.
- [67] M. L. Tan, I. Balabin, J. N. Onuchic, *Biophys. J.* **2004**, *86*, 1813.
- [68] Y. Zhou, C. Oostenbrink, A. Jongejan, W. F. van Gunsteren, W. R. Hagen, S. W. de Leeuw, J. A. Jongejan, *J. Comput. Chem.* **2005**, *26*, 857.
- [69] B. M. Hoffman, L. M. Celis, D. A. Cull, A. D. Patel, J. L. Seifert, K. E. Wheeler, J. Wang, J. Yao, I. V. Kurnikov, J. M. Nocek, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3564.
- [70] O. Miyashita, M. Y. Okamura, J. N. Onuchic, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3558.
- [71] E. Yavin, A. K. Boal, E. D. A. Stemp, E. M. Boon, A. L. Livingstone, V. L. O'Shea, S. S. David, J. K. Barton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3546.
- [72] R. H. Goldsmith, L. E. Sinks, R. F. Kelley, L. J. Betzen, W. Liu, E. A. Weiss, M. A. Ratner, M. R. Wasielewski, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3540.
- [73] S. Trebst, M. Troyer, U. H. E. Hansmann, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 174903.
- [74] S. H. White, G. von Heijne, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2005**, *15*, 378.
- [75] M. Kouza, M. S. Li, E. P. O'Brian, Jr., C. K. Hu, D. Thirumalai, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 671.
- [76] G. E. Sims, I. G. Choi, S. H. Kim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 618.
- [77] F. Jähnig, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1983**, *80*, 3691.
- [78] G. B. Schuster, U. Landman, *Top. Curr. Chem.* **2004**, *236*, 139.
- [79] G. Luo, I. Andricioaci, X. S. Xie, M. Karplus, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 9363.
- [80] A. van der Vaart, M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 114903.
- [81] S. Chowdhury, H. Lei, Y. Duan, *J. Phys. Chem.* **2005**, *109*, 9073.
- [82] D. Tsvilin, V. May, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *408*, 360.
- [83] K. W. Plaxco, K. T. Simans, D. Baker, *J. Mol. Biol.* **1998**, *277*, 985.
- [84] M. Karplus, J. A. McCammon, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 646.
- [85] A. V. Morozov, K. Tsemekhman, D. Baker, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 4503.
- [86] I. H. Lee, S. Y. Kim, J. Lee, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *412*, 307.
- [87] E. G. Petrov, V. May, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 4441.
- [88] X. Q. Li, Y. Yan, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 4169.
- [89] M. Bixon, J. Jortner, *J. Chem. Phys.* **1997**, *107*, 5154.
- [90] H. Frauenfelder, B. H. McMahon, *Ann. Phys.* **2000**, *9*, 655.
- [91] J. Kim, A. Stuchebrukhov, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 8606.
- [92] M. S. Gutowski, persönliche Mitteilung.
- [93] B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **1983**, *4*, 187.
- [94] J. D. Rynbrandt, B. S. Rabinovitch, *J. Phys. Chem.* **1971**, *75*, 2164.
- [95] I. Oref, B. S. Rabinovitch, *Acc. Chem. Res.* **1979**, *12*, 166.
- [96] A. L. Malinovsky, Y. S. Doljikov, A. A. Makarov, N. D. D. Ogurok, E. A. Ryabov, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *419*, 511.
- [97] F. Polo, S. Antonello, F. F. C. Toniolo, F. Maran, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 492.
- [98] W. Cui, Y. Hu, C. Lifshitz, *Eur. Phys. J. D* **2002**, *5*, 565.
- [99] E. Riedle, T. Weber, U. Schubert, H. J. Neusser, E. W. Schlag, *J. Chem. Phys.* **1990**, *93*, 967.
- [100] E. W. Schlag, J. Grottemeyer, R. D. Levine, *Chem. Phys. Lett.* **1992**, *190*, 521.
- [101] Gaussian98 (Revision A.11), M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, W.

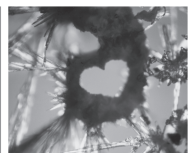


- Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **1998**.
- [102] S. H. Lin, *J. Chem. Phys.* **1970**, 53, 3766.
- [103] S. Y. Sheu, D. Y. Yang, H. L. Selzle, E. W. Schlag, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [104] G. Maruccio, A. Biasco, P. Visconti, A. Bramanti, P. P. Pompa, F. Caabi, R. Cingolani, R. Rinaldi, S. Corni, R. Di Felice, E. Molinari, M. P. Verbeet, G. W. Canters, *Adv. Mater.* **2005**, 17, 816.
- [105] D. Leys, N. S. Scrutton, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2004**, 14, 642.
- [106] S. Sek, K. Swiatek, A. Misicka, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 23121.
- [107] L. Lehr, T. Horneff, R. Weinkauff, E. W. Schlag, *J. Phys. Chem. A* **2005**, 109, 8074.
- [108] I. N. Berezovsky, E. N. Trifonov, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2002**, 20, 5.
- [109] C. M. Dobson, *Nature* **2003**, 426, 884.
- [110] A. R. Panchenko, Z. Luthey-Schulten, P. G. Wolynes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 2008.
- [111] N. Ferguson, A. R. Fersht, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, 13, 75.

## Wiley-VCH BOOK SHOP

### Making Crystals by Design

Methods, Techniques and Applications



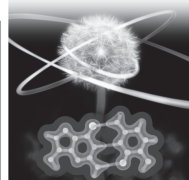
### Making Crystals by Design

An excellent overview of the many aspects of modern crystal engineering -- from design and preparation to spectroscopy and applications. Clearly structured, it provides an overview of the current status as seen from its various angles, as well as a comparison of different techniques and applications.

362 pp, cl, € 149.00  
ISBN: 978-3-527-31506-2

### The Quantum Theory of Atoms in Molecules

From Solid State to DNA and Drug Design  
Foreword by Axel Becke



### The Quantum Theory of Atoms in Molecules

Distilling the knowledge gained from research on atoms in molecules over the last 10 years into a unique, handy reference, the authors address a wide audience throughout, such that this volume may equally be used as a textbook without compromising its research-oriented character.

567 pp, cl, € 159.00  
ISBN: 978-3-527-30748-7

### The Basics of Theoretical and Computational Chemistry

This textbook does away with the classic, unimaginative approach and comes straight to the point with a bare minimum of mathematics. It nonetheless covers all important aspects, at the point where computational chemistry becomes exciting.

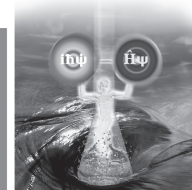
195 pp, cl, € 59.00  
ISBN: 978-3-527-31773-8

### Ullmann's Modeling and Simulation

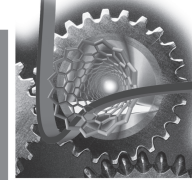
Based on the latest online edition of Ullmann's, this affordable, ready reference meets the need for a detailed survey of the mathematical fundamentals, computational approaches and methods as well as their applications in chemistry and engineering.

470 pp, cl, € 149.00  
ISBN: 978-3-527-31605-2

### The Basics of Theoretical and Computational Chemistry



### ULLMANN'S Modeling and Simulation



You can order online via <http://www.wiley-vch.de>

Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA · POB 10 11 61 · D-69451 Weinheim, Germany

Phone: 49 (0) 6201/606-400 · Fax: 49 (0) 6201/606-184 · E-Mail: [service@wiley-vch.de](mailto:service@wiley-vch.de)

WILEY-VCH

BS\_0701\_C\_PC1\_4C\_1-2h\_gu