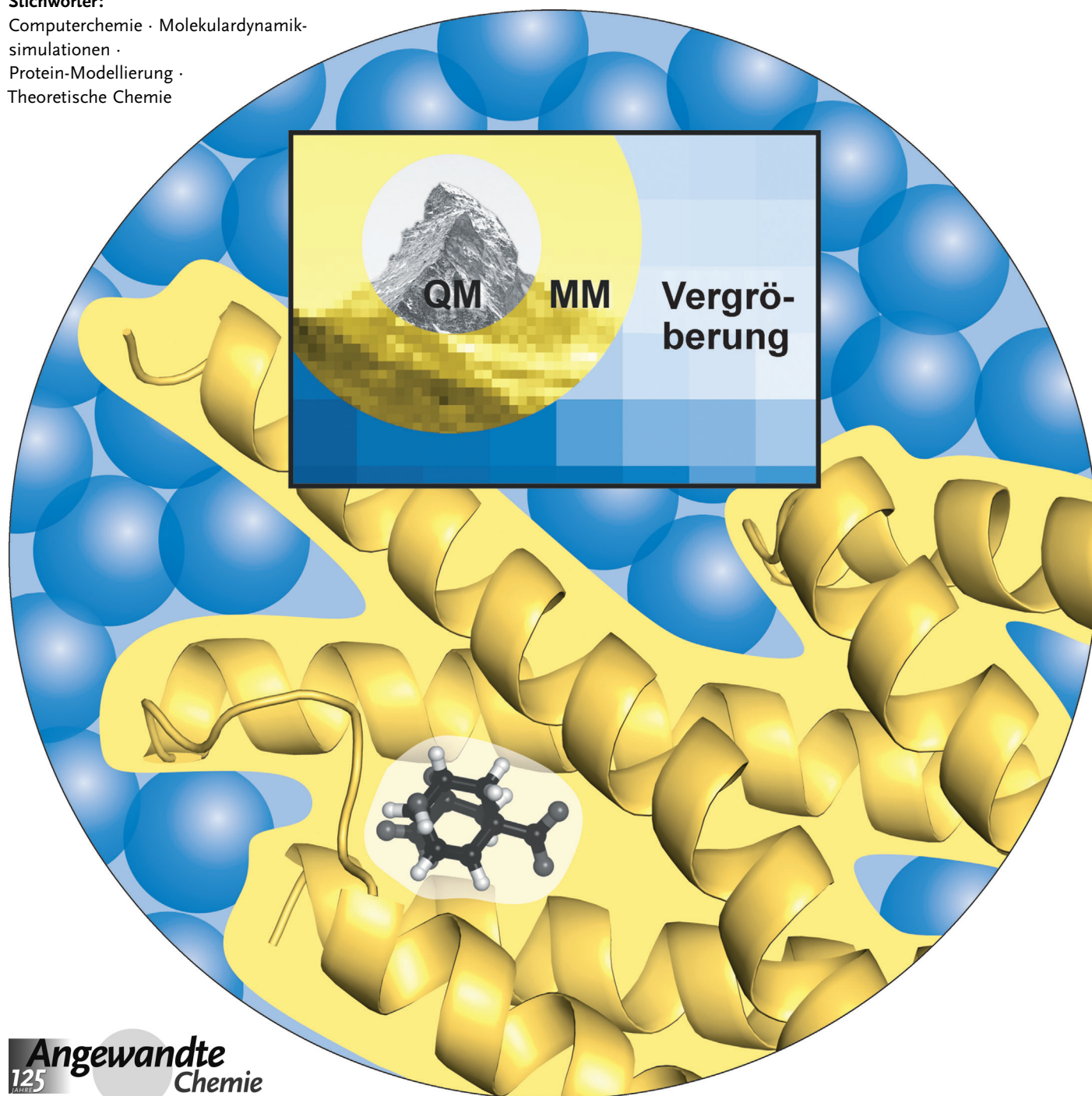


Biomolekulare Simulationen mit mehreren Auflösungs- niveaus: ein Überblick über methodische Aspekte

*Katharina Meier, Alexandra Choutko, Jozica Dolenc, Andreas P. Eichenberger,
Sereina Riniker und Wilfred F. van Gunsteren**

Stichwörter:

Computerchemie · Molekulardynamik-
simulationen ·
Protein-Modellierung ·
Theoretische Chemie



Theoretische und computergestützte Modellierungen, die der Erklärung experimenteller Beobachtungen im Hinblick auf ein bestimmtes chemisches Phänomen oder einen bestimmten chemischen Prozess dienen, erfordern eine Reihe von Annahmen. Diese Annahmen betreffen die essentiellen Freiheitsgrade, die Art der Wechselwirkungen und die Erzeugung eines Boltzmann-Ensembles oder einer Konfigurationstrajektorie. Abhängig von den Freiheitsgraden, die für den interessierenden Prozess unabdingbar sind, wie z. B. elektronische, nukleare oder atomare, molekulare oder supramolekulare, müssen quantenmechanische oder klassisch-mechanische Bewegungsgleichungen angewendet werden. In Simulationen mit unterschiedlichen Auflösungs-niveaus werden verschiedene Ebenen wie elektronische, atomare, supraatomare oder supramolekulare Ebenen in einem einzigen Modell vereint. Dies erlaubt eine Steigerung der Recheneffizienz, wobei eine ausreichende Genauigkeit im Hinblick auf die bestimmten Freiheitsgrade erhalten bleibt. Im Folgenden wird ein Überblick über die grundlegenden Herausforderungen und Annahmen in Bezug auf Modellierungen mit unterschiedlichen Auflösungs-niveaus gegeben. Zur Veranschaulichung werden die unterschiedlichen katalytischen Eigenschaften zweier Enzyme, die sich in ihrer Struktur ähneln, jedoch unterschiedliche Substrate binden, im Hinblick auf diese Substrate unter Verwendung von Simulationen mit elektronischen, atomaren und supramolekularen Auflösungs-niveaus untersucht.

1. Einleitung

Die Ursprünge der Chemie und damit der Suche nach den Ursachen der vielen chemischen Prozesse, die im täglichen Leben zu beobachten sind, liegen über 125 Jahre zurück. Schon im alten Griechenland wurden einfache chemische Modelle vorgeschlagen. So postulierte z. B. Thales im 6. Jh. v. Chr., dass alle Substanzen aus den einfachen Elementen Erde, Wasser, Luft und Feuer aufgebaut sind. Es dauerte jedoch noch bis zum 18. Jahrhundert, bis die wahren chemischen Elemente durch die Generation der Chemiker Lavoisier und Dalton erkannt wurden. Sie erlangten ihre Erkenntnisse auf der Grundlage systematisch geplanter Experimente zur Bestätigung oder Widerlegung einer Theorie oder eines Modells. Mit den Konzepten von Atomen und Molekülen wurde die Chemie, wie wir sie heute kennen, geboren. Die rasche Entwicklung des Verständnisses für physikalische und chemische Prozesse, die sowohl durch Experimente als auch durch die gleichzeitige Entwicklung von Theorie und Modellen vorangetrieben wurde, spiegelte sich 1888 in der Gründung der *Angewandten Chemie* wider. Ebenfalls Ende des 19. Jahrhunderts legte Boltzmann die Grundlage der statistischen Mechanik, die später von Gibbs weiterentwickelt wurde. Während der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts lieferte Planck die Basis für die Entwicklung der Quantentheorie. Die Entwicklung von Computern in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts ermöglichte den Übergang von analytischen Lösungen der grundlegenden quan-

tenstatistisch-mechanischen Gleichungen, die chemische Phänomene beherrschen, hin zu numerischen Lösungen. Dies erweiterte die Anwendbarkeit chemischer Theorie und Modellierung beachtlich. Disziplinen wie makromolekulare Kristallographie, Quantenchemie und Simulationen von Substanzen in kondensierter Phase konnten sich vor einem halben Jahrhundert nur dank der Verwendung von Computern durch die Vorreiter auf diesem Gebiet entfalten.

Heutzutage werden viele chemische Vorgänge wie chemische Reaktionen, Phasentrennung, Solvation, Ligand-Protein-Bindung und Proteinfaltung mithilfe numerischer chemischer Modelle und modernster Rechner untersucht. Jedoch wird die Genauigkeit und Anwendbarkeit der theoretischen computergestützten Modelle in der Chemie durch eine Vielzahl von Faktoren beschränkt: 1) Die Freiheitsgrade, die einen chemischen Prozess beherrschen, sind elektronisch, nuklear, atomar oder molekular, und die entsprechenden Teilchen haben sehr unterschiedliche Massen und Größen (siehe Tabelle 1). 2) Die Wechselwirkungen zwischen diesen Teilchen werden von der Quantenmechanik, d. h. der Dirac-

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	2889
2. Auflösungs-niveaus	2890
3. Beschreibung von Quanteneffekten in molekularen Simulationen	2891
4. Supramolekulare Modelle für die Kombination mit atomaren Modellen in Molekulardynamiksimulationen	2895
5. Simulationen mit unterschiedlichen Auflösungs-niveaus für vier Enzym-Substrat-Komplexe	2897
6. Diskussion	2901

[*] Dr. K. Meier, Dr. A. Choutko, Dr. J. Dolenc, Dr. A. P. Eichenberger, Dr. S. Riniker, Prof. Dr. W. F. van Gunsteren
Laboratorium für Physikalische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, 8093 Zürich (Schweiz)
E-Mail: wfvgn@igc.phys.chem.ethz.ch



Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201205408> zu finden.

Tabelle 1: Charakteristische Teilchengrößen für unterschiedliche Auflösungs-niveaus in Simulationen, Skalierung des Rechenaufwandes als Funktion der Anzahl der Nukleonen (N_n), Elektronen (N_e), Atome (N_a) oder Simulationsteilchen (N_b) und die Reduktion der Anzahl der Freiheitsgrade N_{df} oder Wechselwirkungen und die Reduktion des Rechenaufwandes, welcher durch Vergrößerung auf das nächste Auflösungs-niveau erreicht werden kann.

Auflösungs-niveaus	I	II	III	IV	V
Teilchen	Nukleonen + Elektronen	Kerne + Elektronen	Atome	supraatomare Teilchen	supramolekulare Teilchen
Masse des simulierten Teilchens [amu]	10^{-3} –1	10^{-3} – 10^2	1 – 10^2	10 – 10^2	10 – 10^2
Größe des simulierten Teilchens [nm]	10^{-6}	10^{-6} – 10^{-5}	0.03–0.3	0.5–1.0	0.5–1.0
Wechselwirkungen	starke Coulomb Pauli-Prinzip	Coulomb Pauli	Bindungsterme, Coulomb abstoßend, van der Waals		Coulomb abstoßend, van der Waals
Skalierungsaufwand	$N_n^{\geq 3}$	$N_e^{\geq 3}$	N_a^{1-2}	N_b^{1-2}	N_b^{1-2}
Reduktion der Anzahl der Freiheitsgrade	10–100	10–100	2–5	2–10	
Reduktion des Rechenaufwandes	$\geq 10^3$	$\geq 10^3$	2–25	2–100	

oder Schrödinger-Bewegungsgleichung oder, unter bestimmten Umständen wie nicht zu kleiner Masse oder niedriger Temperatur, von den klassischen Bewegungsgleichungen, d. h. denen von Newton, Lagrange, Hamilton oder Langevin, beherrscht. 3) Bei Temperaturen größer 0 K wird das Teilchenverhalten zusätzlich durch statistische Mechanik, d. h. Bose-Einstein-, Fermi-Dirac- oder Boltzmann-Gesamtheiten, und nicht durch eine einzelne Struktur beschrieben. 4) Verglichen mit den starken Wechselwirkungen zwischen Nukleonen sind die Coulomb- Wechselwirkungen zwischen Kernen und Elektronen räumlich eher weitreichend. Dies ruft Vielteilcheneffekte hervor, die die Rechenkosten einer akkuraten Modellierung der resultierenden Kräfte erhöhen. 5) Die Energie oder Änderung der freien Energie chemischer Prozesse kann im Vergleich zur Gesamtenergie der wechselwirkenden Teilchen, die am Prozess beteiligt sind, sehr klein sein. 6) Die Zeitskala verschiedener chemischer Vorgänge kann leicht 15 Größenordnungen umfassen.

Diese Eigenschaften chemischer Prozesse erschweren das Aufstellen akkurater Vorhersagemodelle in der Chemie. Dennoch werden Computermodellierungen chemischer Prozesse praktiziert. Sie sind notwendig, um experimentelle Beobachtungen zu interpretieren und ergänzen experimentelle

Untersuchungsmethoden. Nur eine sehr eingeschränkte Anzahl von Eigenschaften eines molekularen Systems ist tatsächlich durch experimentelle Messungen zugänglich. Zudem liefern Experimente im Allgemeinen Mittelungen über Moleküle (Raum) oder über die Zeit der beobachtbaren Größen, während die Verteilung dieser Größen über die Zeit vor allem für mikroskopische Zeitskalen unzugänglich bleibt. Ein weiterer Vorzug der Computermodellierungen gegenüber Experimenten ist die Möglichkeit, sie zur Untersuchung mechanistischer Ursache-Wirkungs-Beziehungen zu verwenden. Dies geschieht, indem man solche Modellparameter einzeln ändert, die experimentell nicht geändert werden können ohne andere Parameter zu beeinflussen. Das Ziel dieses Aufsatzes ist es, einen Überblick über die grundlegenden Elemente von Modellierungen und Simulationen mit unterschiedlichen Auflösungs-niveaus in der Chemie zu geben sowie den derzeitigen Stand durch die Anwendung von Simulationen mit solcher Mehrfachauflösung im Hinblick auf die Interpretation der katalytischen Unterschiede zu illustrieren, die zwischen zwei strukturähnlichen Enzymen von beachtlichem praktischem Interesse beobachtet wurden.

2. Auflösungs-niveaus

In der Chemie kann man zwischen verschiedenen Auflösungs-niveaus eines theoretischen oder computergestützten Modells unterscheiden, wie z. B. solchen in Tabelle 1.^[1] Die Wechselwirkungen zwischen Niveau-I- und Niveau-II-Teilchen sind quantenmechanischer Natur, während die Wechselwirkungen zwischen Teilchen des Niveaus III–V im Allgemeinen durch klassische statistische Mechanik bestimmt werden, d. h. wenn Quanteneffekte eine untergeordnete Rolle im Prozess von Interesse spielen. Dies ist jedoch nicht der Fall, wenn während des Prozesses Änderungen in der elektronischen Struktur des molekularen Systems auftreten, wie z. B. bei Knüpfung oder Spaltung einer chemischen Bindung im Verlauf einer chemischen Reaktion oder bei Photo-



Wilfred F. van Gunsteren studierte Physik und Jura an der Freien Universität Amsterdam und promovierte dort 1976. Nach Postdoktoraten an der Universität Groningen (1976–1978) und der Harvard University (1978–1980) arbeitete er bis 1990 in Groningen, seit 1987 als Professor für physikalische Chemie. Von 1987–1992 hielt er außerdem eine Professur für Computerphysik an der Freien Universität Amsterdam. Seit 1990 ist er Professor für computergestützte Chemie an der ETH Zürich. 1986 gründete er die Softwarefirma Biomos, deren Direktor er bis heute ist. Seine Forschungen gelten der Entwicklung von Methoden zur Simulation des Verhaltens biomolekularer Systeme.

anregungsprozessen. Die Zahl der Freiheitsgrade, der Teilchen oder der Wechselwirkungspunkte werden gemeinsam mit den anwendbaren Bewegungsgleichungen, d.h. quantenchemischen oder klassischen, den Rechenaufwand bestimmen. Gleichzeitig sind sie ausschlaggebend für die Verringerung des Rechenaufwandes, der durch Vergrößerung, d.h. durch die Eliminierung bestimmter Freiheitsgrade des molekularen Systems (Tabelle 1), die für den Prozess von Interesse weniger relevant sind, entsteht. Die Eliminierung von Freiheitsgraden führt im Allgemeinen zu einer Verringerung der Anwendbarkeit eines Modells. Beispielsweise wird bei einer Vergrößerung von Niveau II zu Niveau III die Relaxation der elektronischen Freiheitsgrade nicht mehr durch das Modell erfasst. Darüber hinaus kann eine Vergrößerung zu einem Genauigkeitsverlust eines Modells führen, obwohl dies für bestimmte Eigenschaften und Modellarten nicht zutreffen mag. So werden z.B. die Eigenschaften von flüssigem Wasser bei Raumtemperatur und Standarddruck durch das SPC-Modell,^[2] einem Niveau-III-Modell, genauer beschrieben als durch ein auf Dichtefunktionaltheorie (BLYP-Austauschkorrelationsfunktional) basierendes quantenchemisches Modell, einem Niveau-II-Modell.^[3] Demnach wird die Wahl der Freiheitsgrade, die ein Modell beibehalten sollte, durch die zu untersuchenden Eigenschaften und Phase des molekularen Systems bestimmt.

Eine vollständige Eliminierung oder Vernachlässigung von bestimmten Freiheitsgraden ist nur dann gerechtfertigt,^[1,4] wenn 1) sie von geringer Bedeutung für den Prozess oder die zu untersuchenden Eigenschaften sind, 2) sie zahlenmäßig sehr groß sind, um eine ausreichend große Verringerung des Rechenaufwandes zu erreichen, die den Genauigkeitsverlust ausgleicht, 3) die Wechselwirkungen, die diese Freiheitsgrade beherrschen, nur schwach mit denen der übrigen Freiheitsgrade des molekularen Systems gekoppelt sind und 4) die Wechselwirkungen entlang dieser übrigen Freiheitsgrade einfach und genau in dem vergrößerten Modell dargestellt werden können.

Die Herausforderung ein Modell zu entwickeln, welches zwei oder mehrere verschiedene Auflösungsniveaus umfasst, liegt in der physikalisch korrekten Ausgewogenheit zwischen den verschiedenen Wechselwirkungsarten in einem solchen Modell. So werden z.B. in den im Folgenden als Beispiel behandelten Enzym-Substrat-Komplexen die Substrat-Freiheitsgrade auf dem Auflösungsniveau II, die Enzym-Freiheitsgrade auf den Niveaus III und IV und die wässrige Lösung auf Niveau V modelliert. Dies erfordert Konsistenz und Kompatibilität zwischen den quantenchemischen, klassischen und supramolekularen Modellen, die miteinander kombiniert werden. Die Kombination von Niveau II mit den Niveaus III bis V erfordert Annahmen und Näherungen im Hinblick auf die Kompatibilität von quanten- und klassisch-mechanischen Konzepten. Die Kombination der Niveaus III–IV mit dem Niveau V erfordert Annahmen und Näherungen im Hinblick auf die verschiedenen Ausmaße an Energie und Entropie, die in den verschiedenen Freiheitsgraden eines Systems bei der Beschreibung auf atomarem gegenüber supramolekularem Niveau vorhanden sind.^[1] In den folgenden zwei Abschnitten werden wir einen kurzen Überblick über die unterschiedlichen Kombinationen von Modellen mit den

verschiedenen Modellierungsniveaus II bis V geben. Dabei werden wir nur einige konzeptionelle und technische Aspekte hervorheben, die in jedem Modell mit unterschiedlichen Auflösungsniveaus zu beachten sind. In Abschnitt 3 konzentrieren wir uns auf Modelle mit den Niveaus II und III–IV und in Abschnitt 4 auf Modelle mit den Niveaus III–IV und V. Wir haben nicht die Absicht, einen Überblick über die große Vielfalt an etablierten Modellen zu geben. Vielmehr sollen nur die zu treffenden Entscheidungen bei der Kombination der verschiedenen Niveaus innerhalb eines Modells aufgezeigt werden.

3. Beschreibung von Quanteneffekten in molekularen Simulationen

Viele biomolekulare Prozesse lassen sich durch rein klassisch-mechanische (CM) Methoden ausreichend gut beschreiben. Sobald jedoch verhältnismäßig leichte Teilchen, wie z.B. Elektronen oder leichte Kerne wie Protonen, beteiligt sind, kommen Quanteneffekte ins Spiel. Diese können mithilfe einer Vielzahl von Techniken modelliert werden. Dabei können für Protonen oder Kerne, die um Größenordnungen schwerer sind als Elektronen, gröbere Verfahren angewendet werden.

3.1. Quanteneffekte

Für die Chemie sind hauptsächlich solche Quanteneffekte relevant, die die Bewegung von Atomen, Kernen und Elektronen beeinflussen. Welche Quanteneffekte zu berücksichtigen sind, hängt von den Freiheitsgraden ab, die in der Simulation betrachtet werden. Die Energie eines molekularen Systems ist im Prinzip gequantelt, d.h. das System kann nur Zustände (Energieniveaus) annehmen, die diskreten Werten der Energie entsprechen. Im Allgemeinen weisen die elektronischen Energieniveaus eines Moleküls große Abstände auf. Dies bedeutet, dass bei physiologischen Temperaturen nur der Grundzustand besetzt sein wird. Daher werden in atomaren Simulationen die Atome und Moleküle generell so betrachtet als würden sie sich in ihrem elektronischen Grundzustand befinden. Elektronische Freiheitsgrade werden nicht explizit behandelt. Schwingungsenergieniveaus, die die Kernbewegung einbeziehen, zeigen viel kleinere Energiedifferenzen auf als elektronische Energieniveaus. Sie liegen für Bindungswinkelschwingungen in der Größenordnung von 1600 cm^{-1} und für Bindungsstretschwingungen in der Größenordnung von 3700 cm^{-1} . Jedoch liegt die thermische Energie pro Freiheitsgrad in molekularen Simulationen im Bereich von $k_B T$ (200 cm^{-1} bei 300 K), wobei k_B die Boltzmann-Konstante und T die Temperatur bezeichnet. Damit ist die thermische Energie viel kleiner als die Energie, die zur Anregung dieser Schwingungsmodi benötigt wird. Daher wird in klassischen Simulationen angenommen, dass sich die molekularen Systeme in ihrem Schwingungsgrundzustand mit der Nullpunktenergie $1/2\hbar\omega$ befinden (wobei \hbar die Planck-Konstante geteilt durch 2π ist und ω gleich 2π mal der Schwingungsfrequenz ist). Für diese Energie wird in

Tabelle 2: Übersicht über die Hauptunterschiede zwischen Quantenmechanik und klassischer Mechanik wie sie auf molekulare Systeme angewendet werden.

Quantenstatistische Mechanik (QM)	Klassische statistische Mechanik (CM)
<ul style="list-style-type: none"> zeitabhängige Schrödinger-Gleichung: $i\hbar \frac{\partial \Psi(\vec{r}^N, t)}{\partial t} = \hat{H}\Psi(\vec{r}^N, t)$ mit Wellenfunktion Ψ Born-Oppenheimer-Näherung: Kerne und Elektronen entkoppelt Wahrscheinlichkeitscharakter der Wellenfunktion, $\Psi(\vec{r}_i, t) ^2$ Unschärferelation, keine Trajektorie Bose-Einstein- oder Fermi-Dirac-Statistik (Pauli Prinzip) 	<ul style="list-style-type: none"> Newton'sche Gleichung: $\vec{f}_i = m_i \vec{a}_i \quad \vec{f}_i = -\frac{\partial V(\vec{r}^N)}{\partial \vec{r}_i}$ Funktion der potentiellen Energie $V(\vec{r}^N)$ ist allgemein paarweise additiv, aber Polarisierung kann eingebunden werden Trajektorie im Phasenraum \vec{r}^N, \vec{p}^N Boltzmann-Statistik

klassischen Simulationen die Energie eines klassischen harmonischen Oszillators als Näherung verwendet. Im Fall einer Bindungsstreckschwingung wird der Grundzustand einfach durch eine feste Bindungslänge genähert, welches hier eine bessere Näherung darstellt als der klassische harmonische Oszillator.

In einem System quantenmechanisch beschriebener Teilchen hängen die statistischen Eigenschaften der Zustandsverteilung davon ab, ob die Wellenfunktion, die die Quantenzustände beschreibt, symmetrisch (Bose-Einstein-Verteilung) oder antisymmetrisch (Fermi-Dirac-Verteilung) im Hinblick auf die Vertauschung zweier Teilchen, die den selben Zustand besetzen, ist (Tabelle 2). Wenn die Anzahl an Ein-Teilchen-Zuständen, Energieniveaus, deutlich größer ist als die Anzahl an Teilchen und wenn die Temperatur ausreichend hoch ist, können diese Verteilungen wie in molekularen Simulationen durch eine Boltzmann-Verteilung zuverlässig genähert werden.

Ein weiterer Quanteneffekt, der von Bedeutung sein kann, folgt aus der Heisenberg'schen Unschärferelation $\Delta p_x \Delta q_x \geq 1/2\hbar$, wobei Δp_x die Unschärfe des Impulses p_x in x -Richtung und Δx die Unschärfe der Position x eines Teilchens entlang dieser Achse sind. Sie besagt, dass die Position und der Impuls eines Teilchens nicht gleichzeitig exakt bestimmt werden können. Daher wird die quantenmechanische Wellenfunktion $\Psi(x, t)$ eines Teilchens auch als die Wahrscheinlichkeit eines Teilchens, einen bestimmten Ort entlang der x -Achse zu einem Zeitpunkt t einzunehmen, proportional zu $|\Psi(x, t)|^2$ interpretiert. Dies hat zur Folge, dass definierte Trajektorien von Quantenzuständen nicht existieren und dass Tunneln durch hohe Energiebarrieren auftreten kann, z. B. im Fall von Protonentransport zwischen Molekülen.

Wenn elektronische Freiheitsgrade eine bedeutende Rolle in einem molekularen Prozess spielen, müssen diese Freiheitsgrade quantenmechanisch behandelt werden. Dies ist bei der Modellierung von Änderungen in chemischen Bindungen oder elektronischen Relaxationsprozessen der Fall. Niveaus können mit unterschiedlicher Genauigkeit erreicht werden – von hochakkuraten, sehr kostenintensiven Ab-initio-Methoden bis hin zu computertechnisch sehr viel günstigeren semiempirischen und Valenzbindungsmethoden (Tabelle 3). Falls die Umlagerung der Elektronendichte in Reaktion auf eine Änderung der molekularen Umgebung

klein ist, kann eine klassische Beschreibung mithilfe von atomarer oder molekularer Polarisierung oder Ladungstransfer zwischen Atomen geeignet sein.

3.2. Vergleich von quantenmechanischen und klassischen Simulationen

Die grundlegende Gleichung in reinen quantenmechanischen Simulationen, die die Bewegung, d. h. die Änderung des Quantenzustandes mit der Zeit, eines molekularen Systems nicht-relativistisch beschreibt, ist die nicht-relativistische zeitabhängige Schrödinger-Gleichung. Ihre Lösung wird durch eine Wellenfunktion $\Psi(\vec{r}^N, t)$ als Funktion der Koordinaten \vec{r}^N der Teilchen N (z. B. Kerne, Elektronen) und der Zeit t gegeben (siehe Tabelle 2). Aufgrund ihrer deutlich größeren Masse bewegen sich die Kerne wesentlich langsamer als die leichten Elektronen. Dies rechtfertigt die Born-Oppenheimer-Näherung zur Trennung von Kern- und Elektronenbewegung. In der Born-Oppenheimer-Näherung wird die Wellenfunktion als ein Produkt aus der Kern- und Elektronenwellenfunktion geschrieben und die elektronische, zeitunabhängige Schrödinger-Gleichung für ein gegebenes stationäres externes elektrisches Feld, verursacht durch die Kerne, gelöst. Wie bereits erwähnt wird die exakte Positionsbestimmung eines Teilchens durch die Unschärferelation beschränkt. Zudem kann keine Trajektorie definiert werden, sondern nur die Aufenthaltswahrscheinlichkeit an einem bestimmten Ort.

Unter der Annahme, dass die potentielle Energie impulsunabhängig ist und unter Verwendung kartesischer Koordinaten wird die Bewegung eines Systems in der klassischen Mechanik vollständig durch Newtons Bewegungsgleichungen beschrieben (Tabelle 2). Die Kraft auf einen bestimmten Freiheitsgrad wird aus dem negativen Gradienten der Funktion der potentiellen Energie erhalten, welche die Wechselwirkungen innerhalb des Systems beschreibt. Der nicht-bindende Teil dieser Funktion ist im Allgemeinen paarweise additiv. Polarisierung kann in diese Beschreibung eingeschlossen werden. Im Sinne der statistischen Mechanik sollte die Trajektorie einer klassischen Simulation eine Boltzmann-Verteilung darstellen.

Tabelle 3: Klassifikation der Theorie und Methoden molekularer Simulationen.

Quantenstatistische Mechanik	Klassische statistische Mechanik
1. Eine einzelne Konfiguration: statisch QM: zeitunabhängig Schrödinger-Gleichung $T=0$ <ul style="list-style-type: none"> ● Ab-initio ● DFT ● semiempirische QM-Methoden ● empirisches Valenz-Band-Modell 	CM: Energieminimierung $T=0$ <ul style="list-style-type: none"> ● (empirisches) Kraftfeld
2. Gesamtheit von Konfigurationen: statistische Mechanik des Gleichgewichts QM: Dichtematrizen $T \neq 0$ <ul style="list-style-type: none"> ● Pfadintegral-Simulationen 	CM: Boltzmann-Sampling $T \neq 0$ <ul style="list-style-type: none"> ● Kraftfeld ● Monte-Carlo-Simulationen ● Molekulardynamiksimulationen ● Stochastische Dynamiksimulationen
3. Trajektorien von Konfigurationen: Dynamik QD: zeitabhängige Schrödinger-Gleichung $T \neq 0 + \text{Dynamik}$ <ul style="list-style-type: none"> ● Propagation der Wellenfunktion ● Dichtematrixevolution ● Pfadintegral in Echtzeit ● Bohrsche Dynamik ● Surface-Hopping 	CD: Bewegungsgleichungen von Newton, Lagrange, Hamilton, Langevin $T \neq 0 + \text{Dynamik}$ <ul style="list-style-type: none"> ● Kraftfeld ● Molekulardynamiksimulation ● Stochastische Dynamiksimulationen

Eine zweite Möglichkeit zur Klassifizierung von Simulationsmethoden ist die Einteilung danach, ob eine einzelne Struktur, d.h. eine Struktur mit minimaler Energie, bzw. eine Konfiguration eines molekularen Systems oder ob eine bestimmte, d.h. kanonische Gesamtheit von Strukturen bzw. Konfigurationen oder ob eine dynamische Sequenz von Konfigurationen, d.h. eine Trajektorie betrachtet wird (Tabelle 3). Die Lösungen der zeitunabhängigen Schrödinger-Gleichung für elektronische Freiheitsgrade oder eine Konfiguration, die durch Energieminimierung basierend auf einem empirischen Kraftfeld erhalten wurden, stellen Beispiele für einzelne Konfigurationen dar. Diese statischen Konfigurationen repräsentieren typischerweise ein System bei einer Temperatur von 0 K. Da man im Allgemeinen an Systemen bei Temperaturen größer als 0 K interessiert ist, nutzt man Methoden wie Monte-Carlo-, molekulare oder stochastische Dynamiksimulationen, um eine Boltzmann-Verteilung von Konfigurationen in einem bestimmten thermodynamischen Zustand^[5,6] zu generieren. Wenn die Freiheitsgrade durch die Gesetze der Quantenmechanik beherrscht werden, ist Pfadintegral-Simulation, ausgedrückt in Form von Dichtematrizen,^[7–9] die entsprechende Simulationsmethode zur Generierung einer Gesamtheit. Sofern man an den dynamischen Eigenschaften eines molekularen Systems interessiert ist, müssen die Bewegungsgleichungen von Newton oder Langevin für klassische Teilchen oder die Schrödinger-Bewegungsgleichung in der ein oder anderen Form integriert werden, wie z.B.: Wellenfunktionspropagation,^[10–13] Dichtematrixevolution,^[14,15] Pfadentwicklung in Echtzeit^[16] oder Bohrsche Dynamik.^[17,18] Die beiden letztgenannten Strategien nutzen die Tatsache, dass das Quantenverhalten unter bestimmten Umständen in Form von klassischen Teilchenverteilungen mithilfe von mathematischer Äquivalenz for-

muliert werden kann.^[6] Übergänge zu und von angeregten Zuständen können mit „Surface-Hopping“^[19–21] oder „Multiple-Spawning“-Techniken^[22–25] untersucht werden.

3.3. Kombinierte QM/MM-Simulationen: Methoden

Die Quantenchemie hat ihren Ursprung in den 60er Jahren, als allgemein programmierbare Computer verfügbar wurden. Um Grund- und angeregte Zustände von Molekülen für feste Kernpositionen zu berechnen, werden elektronische Freiheitsgrade behandelt (Tabelle 4). Im selben Jahrzehnt wurden klassische Molekulardynamiksimulationen für atomare Flüssigkeiten erforscht, gefolgt von molekularen Flüssigkeiten in den 70er Jahren. Die erste sehr einfache kombinierte quantenmechanische/molekularmechanische (QM/MM) Simulation, in welcher die Kerne als klassische Teilchen und die elektronischen Freiheitsgrade quantenmechanisch behandelt werden, wurde 1976 veröffentlicht.^[26] Zusätzlich wurde das System räumlich in eine QM-Region, in der das beschriebene Verfahren angewendet wurde, und in eine sogenannte MM-Region, in welcher die Atome klassisch behandelt wurden, eingeteilt. In den 90er Jahren wurden solche kombinierten QM/MM-Methoden weiterentwickelt.^[27] Vielfältige Möglichkeiten für die Kopplung und die Grenze zwischen den quantenmechanisch und den molekularmechanisch behandelten Teilchen wurden untersucht.^[28] Sogenannte Ab-initio-Molekulardynamiksimulationen (MD) wurden in den 80er Jahren eingeführt: Die Kerne aller Atome des Systems wurden als klassisch dynamische (CD) Teilchen beschrieben, während ihre Valenzelektronen mithilfe von Dichtefunktionaltheorie behandelt wurden.^[29] Dadurch entfällt die Notwendigkeit, eine räumliche QM/MM-Grenze zu definieren.

Tabelle 4: Grobe historische Übersicht über die Methoden und Anwendungen molekularer Simulationen.

Methode	Atome/Kerne	Elektronen
1. Konventionelle Quantenchemie (1960 →)	fest: $T = 0$ K einzelne Konfiguration	QM: Schrödinger: Ab-initio (zeitabhängig) Dichtefunktionaltheorie semiempirisch Valenz-Band Grundzustand + angeregte Zustände
2. Konventionelle klassische Simulationen (1970 →)	CM: Atome Newton: $T = 300$ K Dynamik	herausgemittelt keine Reaktionen
3. Ab-initio-Simulationen (1985 →)	CM: Kerne Newton: $T = 300$ K Dynamik	QM: (wie unter 1.) nur Grundzustand
4. Surface-Hopping-Simulationen (1990 →)	CM: Kerne Newton: $T = 300$ K Dynamik	QM: (wie unter 1.) Grundzustand + angeregte Zustände
5. Kombinierte QM/MM-Simulationen (1990 →)	CM: Kerne + Atome Newton: $T = 300$ K Dynamik	QM: (wie unter 1.) für wenige Atome nur Grundzustand
6. Pfadintegral-Simulationen (1990 →)	QM: Atome Gesamtheit	QM: (wie unter 1.) oder herausgemittelt
7. Kombinierte QD/CD-Dynamiksimulationen (1993 →)	QM: wenige leichte Atome Schrödinger: Dynamik, Grundzustand + angeregte Zustände CM: Viele Atome Newton: $T = 300$ K Dynamik	QM: (wie unter 1.) für wenige Atome oder herausgemittelt

Während der 90er Jahre wurden Pfadintegral-Methoden genutzt, um Prozesse wie Elektronen- oder Protonentransfer^[30,31] oder Oberflächenadsorption leichter Adsorbate^[32] durch klassische Simulationen zu untersuchen. Im selben Jahrzehnt sah man die Kombination von Wellenfunktionspropagation, Dichtematrixevolution und Surface-Hopping-Techniken mit klassischer Dynamik in gemischt quantenklassischen Simulationen;^[14,15,33] für Übersichtsartikel siehe Lit. [21,34,35]. Mit wachsender Popularität der kombinierten QM/MM-Methoden wurde auch über entsprechende Pfadintegral-,^[36,37] Surface-Hopping-^[38–42] und Multiple-Spawning-Simulationen^[43] berichtet.

Die Klassifikation der Methoden in den Tabellen 3 und 4 ermöglicht eine systematische Beschreibung der Literatur über QM/MM-Simulationen: 1) Welche Teilchen oder Freiheitsgrade wie z.B. Elektronen oder Kerne werden quantenmechanisch und welche werden klassisch behandelt, 2) ob eine einzelne Konfiguration, eine Gesamtheit oder eine Trajektorie generiert wird und 3) welche quantenmechanische oder klassische Methode zu diesem Zweck genutzt wird. Weitere Unterscheidungsmöglichkeiten sind 4) die Art der allgemeinen Kopplung zwischen den Quanten- und klassischen Teilchen und 5) die Handhabung der Wechselwirkungen an der Grenze zwischen den quantenmechanisch und molekularmechanisch behandelten Regionen des Systems.

3.4. Kombinierte QM/MM-Simulationen: Kopplung und Grenze

Die inhärente Inkompatibilität der Gesetze der Quantenmechanik und der klassischen Mechanik bei begrenzter Temperatur erschwert eine konsistente Beschreibung gemischt quantenmechanischer-molekularmechanischer Systeme. Aufgrund ihrer Bedeutung für die Untersuchung biomolekularer Prozesse, vor allem enzymatischer Reaktionen, fokussiert dieser Abschnitt auf die kombinierte QM/MM-Methodik. In der Vergangenheit wurden verschiedene Möglichkeiten vorgeschlagen, um die Kopplung zwischen der Ladungsdichte der QM- und der MM-Region sowie die Wechselwirkungen an der QM/MM-Grenze zu beschreiben. Bakowies und Thiel^[28] präsentierten ein direktes Klassifizierungsschema elektrostatischer Kopplungsmodelle. Demzufolge beschreibt das einfachste Modell (Modell A) die Kopplung rein auf der Basis der klassischen Mechanik, wobei den Atomen der QM-Region klassische Punktladungen zur Auswertung elektrostatischer QM-MM-Wechselwirkungen zugewiesen werden. Dieses Modell schließt keine Polarisierung der QM-Region ein und wird in der Literatur als mechanische Einbettung bezeichnet. Das am häufigsten verwendete Modell zur QM-MM-Kopplung wird elektrostatische Einbettung (Modell B) genannt. Es berücksichtigt die Polarisierung der QM-Elektronendichte durch die MM-Punktladun-

gen, indem diese explizit in Form von externen Punktladungen in den quantenmechanischen Hamilton-Operator eingebunden werden. Die polarisierte Einbettung (Modelle C und D) behandelt zusätzlich die Polarisierung der MM-Region, die durch das elektrische Feld der QM-Region induziert wird. Obwohl die polarisierte Einbettung im Sinne einer ausgewogenen Beschreibung der Polarisierung der QM- und MM-Regionen fortschrittlicher als das Modell B ist, ist diese Methode noch Gegenstand aktueller Untersuchungen und wird derzeit nicht standardmäßig angewendet.

Ein kritischer Punkt, der erst vor kurzem detaillierter betrachtet wurde,^[44–53] ist die Beschreibung der weitreichenden QM-MM-Coulomb-Wechselwirkungen. Zu den damit verbundenen Methoden zählen die Skalierung von Ladungen,^[44] die variationelle elektrostatische Projektion,^[47,48] das verallgemeinerte Solvensrandpotential^[46,51–53] und die linear skalierende Particle-Mesh-Ewald-Methode. In standardmäßig verwendeten QM-MM-Methoden werden die nichtbindenden Van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen der QM- und MM-Region rein klassisch mechanisch beschrieben.

Die geeignete Beschreibung der Ladungsverteilung an der QM/MM-Grenze ist ein anderer Punkt, der zu betrachten ist. Es gilt eine zu starke Polarisierung der QM-Elektronendichte durch kurze Distanzen zu den klassischen Punktladungen zu verhindern. Dies ist bei der Behandlung von chemischen Bindungen, die die QM-MM-Grenze kreuzen, von besonderer Bedeutung, da dies zu ungepaarten Elektronen des zugehörigen QM-Atoms an der Grenze führt. Verfügbare Methoden zur Handhabung dieser Schwierigkeiten reichen von dem populären Link-Atom-Schema^[54] und seinen verschiedenen Varianten zur Umgehung einer zu starken Polarisierung bis hin zu Pseudopotentialmethoden und der Verwendung von festen lokalisierten Orbitalen. Eine detaillierte Charakterisierung verschiedener Methoden kann in Lit. [50] und den darin zitierten Referenzen gefunden werden. Für Übersichtsartikel über die QM/MM-Methodik siehe Lit. [50,55–57]

4. Supramolekulare Modelle für die Kombination mit atomaren Modellen in Molekulardynamiksimulationen

Zunächst werden wir eine Vergrößerung von Niveau III auf Niveau IV, d.h. die Eliminierung der intramolekularen Freiheitsgrade, betrachten. Im Anschluss folgt eine Diskussion der zusätzlichen Komplikationen bei einer Vergrößerung von Niveau III–IV auf Niveau V.

4.1. Eliminierung intramolekularer Freiheitsgrade von Makromolekülen

Indem man aliphatische CH-, CH₂- und CH₃-Gruppen als einzelne, sogenannte „vereinigte“ Atome^[58] behandelt, wird die Anzahl der Angriffspunkte für Wechselwirkungen deutlich reduziert. Vier- bis 16fach weniger paarweise nichtbindende Wechselwirkungen müssen zwischen solchen Gruppen berechnet werden. Eine Erhöhung der Recheneffizienz um

ungefähr einen Faktor 10 kann bei nur geringem Genauigkeitsverlust erreicht werden.^[1]

Eine andere unkomplizierte Art, die intramolekularen Freiheitsgrade eines Makromoleküls zu reduzieren, ist es, seine Bindungslängen, welche die Bewegung entlang der anderen Freiheitsgrade des Makromoleküls nicht signifikant beeinflussen, zu fixieren.^[59] Dies erlaubt eine Reduktion des Rechenaufwandes um einen Faktor vier.^[4] Die Freiheitsgrade der Bindungswinkel in Makromolekülen wie Proteinen können nicht ohne eine signifikante Beeinflussung der Torsionswinkelbewegungen und anderer Bewegungen fixiert werden.^[59,60] Wenn keine Torsionswinkelfreiheitsgrade im Molekül vorhanden sind, wie im Fall kleiner Solvensmoleküle, werden Freiheitsgrade der Bindungswinkel standardmäßig fixiert, um ein starres, recheneffizientes Modell für die vielen Solvensfreiheitsgrade zu erhalten.

Die Vergrößerung von Niveau III auf Niveau IV, Eliminierung polarer Wasserstoffe oder Nicht-Wasserstoffatome, ist besonders für inhomogen zusammengesetzte Makromoleküle wie Proteine eine Herausforderung aufgrund ihrer Heterogenität in Form von Atomtypen. Die Invarianz der Größenordnung, die dem Renormalisierungsgruppenansatz für Vergrößerung weitgehend homogener Polymere zugrundeliegt, wird nicht für Biopolymere wie z.B. Proteine, Polynukleotide und Kohlenhydrate beobachtet, welche aus verschiedenen komplexen Struktureinheiten aufgebaut sind, die durch unterschiedliche Wechselwirkungsarten miteinander verbunden sind. Wenn intramolekulare Freiheitsgrade entfernt werden, muss die grundlegende Geometrie und die Ausgewogenheit zwischen den verschiedenen Wechselwirkungen erhalten bleiben, um den Verlust von charakteristischen Eigenschaften dieser Moleküle zu vermeiden.^[61] Darüber hinaus spielt Entropie eine nicht zu vernachlässigende Rolle bei der molekularen Reorganisation biomolekularer Systeme in wässriger Lösung. Der durch die Eliminierung von Freiheitsgraden entstandene Entropieverlust muss durch eine Reduktion der Energie der verbleibenden Freiheitsgrade kompensiert werden, um die relevanten Differenzen der freien Energie bei einem Übergang von Niveau-III-Modellen zu Niveau-IV- oder Niveau-V-Modellen zu erhalten. Wie Tabelle 1 zeigt, ist die Verminderung des Rechenaufwandes von Niveau III zu Niveau IV relativ gemäßigt verglichen mit der von Niveau II zu Niveau III. Dies verdeutlicht, dass sich eine Vergrößerung von Niveau III zu Niveau IV für Makromoleküle wie Proteine, Polynukleotide oder Kohlenhydrate, obwohl derzeit relativ beliebt, nicht auszahlt. Eine begrenzte Verringerung der Anzahl der Wechselwirkungszentren wird auf Kosten des Verlustes charakteristischer Eigenschaften dieser Makromoleküle in Form von intramolekularen Wechselwirkungen, Entropie und Wechselwirkungem mit dem Solvens erreicht.^[6] Nur im Fall von Lipiden mit ihren relativ langen homogenen aliphatischen Enden mag man in der Lage sein, den dominanten amphiphilen Charakter dieser Moleküle trotz Eliminierung intramolekularer Wechselwirkungspunkte zu erhalten. Wegen der Menge an Lipiden in Membranen kann die Steigerung der Recheneffizienz den Verlust von atomaren Details kompensieren.

4.2. Eliminierung supramolekularer Freiheitsgrade des Solvens

Eine vielfach angewendete Strategie, um den Rechenaufwand der Simulation von gelösten makromolekularen Stoffen in Solvens zu reduzieren, ist die Eliminierung aller Freiheitsgrade des Solvens. Diese Strategie führt zu sogenannten impliziten Solvationsmodellen,^[62] in welchen der Effekt des Solvens auf die Bewegung entlang der Freiheitsgrade des gelösten Stoffes ausschließlich als eine Funktion der Koordinaten dieses gelösten Stoffes modelliert wird. Auf biomolekulare Systeme in wässriger Lösung angewandt, sind solche impliziten Solvationsmodelle aufgrund der Schwierigkeit, den essentiellen hydrophoben Effekt bei Vielteilchensystemen sowie ionische Solvationseffekte ohne Wasser und die ionischen Freiheitsgrade nachzuahmen,^[1] relativ grob, um es milde auszudrücken. Es wäre daher vielversprechender, die Freiheitsgrade des Solvens zu erhalten. Da die Berechnung von Solvens-Solvens-Wechselwirkungen und Wechselwirkungen zwischen gelöstem Stoff und Solvens auf atomarer Ebene den Rechenaufwand dominiert, verspricht eine Vergrößerung von Solvensfreiheitsgraden, insbesondere supramolekulare Vergrößerung, in welcher mehr als ein Solvensmolekül in einem supramolekularen Solvenskomplex oder einem supramolekularen Solvensteilchen zusammengefasst werden, einen substantiellen Gewinn an Recheneffizienz.

Im Fall des Wassers sollte eine Vergrößerung von Niveau III zu Niveau V die wichtigsten thermodynamischen Größen wie die Verdampfungswärme, die Dichte, die freie Energie, die Entropie, die Oberflächenspannung, die dielektrischen Eigenschaften, die in der großen dielektrischen Permittivität von 78 bei Raumtemperatur und Standarddruck widergespiegelt werden, und die Wasserstoffbrückenbindungskapazität von flüssigem Wasser so gut wie möglich beibehalten.^[63] Dieses Ziel kann jedoch nicht erreicht werden, wenn ein supramolekulares Wasserteilchen als ein Lennard-Jones-Teilchen ohne Ladung modelliert wird.^[64–66] Ein supramolekulares Wasserteilchen braucht mindestens zwei Wechselwirkungspunkte mit Ladungen oder einen einzelnen idealen Dipol, um die dielektrischen Eigenschaften von flüssigem Wasser zu repräsentieren. Solch ein supramolekulares Wassermodell, bei dem fünf Wassermoleküle durch ein supramolekulares Wasserteilchen mit zwei Wechselwirkungspunkten repräsentiert werden, hat erwiesen, die Solvationseigenschaften von Wasser recht gut zu reproduzieren.^[63] Dabei ist es ein bis zwei Größenordnungen effizienter als ein atomares Wassermodell mit drei Wechselwirkungspunkten, wie z. B. das SPC-Modell.

Bei der Entwicklung eines supramolekularen Niveau-V-Modells kommen einige technische Punkte zum Tragen, die bei der Formulierung atomarer (Niveau III) oder supraatomarer (Niveau IV) Modelle keine Rolle spielen. Diese betreffen die Wahl der dielektrischen Permittivität, die im Ausdruck der elektrostatischen Energie benutzt werden soll, und das Berücksichtigen der Molekülanzahl, die durch ein einzelnes supramolekulares Teilchen repräsentiert wird, beim Vergleich bestimmter Größen mit experimentell gemessenen Werten.^[1, 63, 67]

4.3. Kombiniert atomare/supramolekulare Simulationen: Methoden

Im Allgemeinen wird ein Modell, welches für ein bestimmtes Auflösungs-niveau entwickelt wurde, nur für dieses Niveau verwendet. Jedoch erhöht eine Kombination der Niveaus III, IV und V auch die Recheneffizienz der Simulation eines Systems mit vielen Freiheitsgraden, wie im Fall von QM/MM-Simulationen, die innerhalb einer Simulation Modelle des Niveaus II mit Modellen des Niveaus III vereinen. Solch eine Kombination der verschiedenen Niveaus, auch multi-körnige Simulation genannt, kann verschiedene Formen annehmen.^[1]

1. Die Simulation wechselt im Zeitverlauf zwischen den verschiedenen Auflösungs-niveaus. Dies kann auf zwei Arten realisiert werden:
 - a) Die Simulation wird auf supraatomarem Auflösungs-niveau durchgeführt, und bestimmte Konfigurationen werden auf das atomare Niveau rückprojiziert.^[68–76]
 - b) Ein Kopplungsparameter λ , welcher einen Pfad zwischen dem atomaren Modell (e.g. $\lambda = 0$) und dem supraatomaren oder supramolekularen Modell (e.g. $\lambda = 1$) definiert, wird eingeführt. Dies erlaubt ein gleichmäßiges Wechseln zwischen den verschiedenen Auflösungs-niveaus, wie z. B. in „Hamilton-Replika-Austausch“-Simulationen.^[77–79]
2. Das System enthält eine Mischung atomarer und supraatomarer oder supramolekularer Teilchen. Diese Mischung kann auf zwei Wegen umgesetzt werden:
 - a) Der Raum, den das System einnimmt, wird in eine Region mit atomarem Auflösungs-niveau, eine Region mit supraatomarem oder supramolekularem Auflösungs-niveau und eine kleine Pufferregion eingeteilt.^[80–85] In der Pufferregion können die Teilchen von einem Niveau zum anderen wechseln.
 - b) Die Teilchen sind entweder atomar, supraatomar oder supramolekular und können sich frei im Raum vermischen. Die Auflösung dieser Teilchen ist daher während der Simulation konstant.^[86–93] Dieses Schema wird gewöhnlich in Niveau II/Niveau III kombinierten QM/MM-Simulationen angewendet.

4.4. Kombiniert atomare/supramolekulare Simulationen: Kopplung und Grenze

Bei der Entwicklung von Modellen, die zwei oder mehr Auflösungs-niveaus miteinander verknüpfen, ist es erforderlich, die Wechselwirkungen zwischen den Teilchen der verschiedenen Niveaus so zu definieren, dass eine physikalisch korrekte Verteilung von Energie und Entropie über die verschiedenen Niveaus erhalten wird. Die im nächsten Abschnitt diskutierten Simulationen mit Mehrfachauflösung beziehen beispielsweise drei verschiedene Auflösungs-niveaus ein: Niveau II für ein Substrat, Niveau III (abgesehen von „vereinigten“ Atomen) für die Enzyme und Niveau V für das Solvens. Dies bedeutet, dass die Wechselwirkungen der Art II/III, II/V und III/V so zu definieren sind, dass sie thermodynamisch, dielektrisch und geometrisch so gut wie möglich mit den gegebenen Wechselwirkungen innerhalb eines Auf-

lösungs-niveaus kompatibel sind. Der Unterschied in Teilchengröße, Anzahl der Wechselwirkungspunkte und in der Stärke der Wechselwirkungen auf den verschiedenen Auflösungs-niveaus, wiedergegeben durch die verschiedenen Modellparameter, ist zu berücksichtigen. Im Fall von atomaren/supraatomaren Wechselwirkungen können die Parameter der nicht-bindenden Wechselwirkungen so gewählt werden, dass bestimmte Eigenschaften der Mischungen von atomaren und supraatomaren Teilchen, die die gleiche Flüssigkeit repräsentieren, reproduziert werden.^[91] Für eine Mischung von Wasserteilchen auf atomarem Niveau (AL) und supramolekularem Niveau (SM) wurde dies durch das Verwenden eines Wertes für die dielektrische Permittivität, $\epsilon_{\text{cs}}^{\text{AL/SM}} = 2.3$, in den elektrostatischen Wechselwirkungen innerhalb eines festgesetzten Bereichs zwischen Teilchen des atomaren und supramolekularen Niveaus im Term der elektrostatischen potentiellen Energie für supramolekulare Wasser-Wechselwirkungen realisiert.^[91] Für AL-SM-Lennard-Jones-Wechselwirkungen können Kombinationsregeln, angewendet auf die AL-AL- und SM-SM-Wechselwirkungsparameter, genutzt werden. Des Weiteren können, falls nötig, Werte für verschiedene Arten von Teilchenkombinationen skaliert werden.^[92]

Wenn ein Solvat atomaren Auflösungs-niveaus von einer ebenfalls atomaren Schicht aus Solvens, welches von supramolekularen Solvensteilchen umgeben ist, solvatisiert wird, kann diese Solvensschicht atomaren Auflösungs-niveaus durch einen schwachen, die Distanz beschränkenden Term der potentiellen Energie in der Hamilton-Funktion nah am Solvat gehalten werden.^[93]

5. Simulationen mit unterschiedlichen Auflösungs-niveaus für vier Enzym-Substrat-Komplexe

Die Aufklärung der Triebkräfte und Mechanismen der Enzymkatalyse ist eine der faszinierendsten Herausforderungen in der Biochemie und ist von praktischem Interesse. Offensichtlich ist die beobachtete Beschleunigung der katalysierten chemischen Reaktion verglichen mit der gleichen unkatalysierten Reaktion in der Gasphase oder in Lösung auf die Proteinumgebung des Reaktanten oder Substrats zurückzuführen, welches im aktiven Zentrum des Enzyms gebunden wird. Der katalytische Prozess kann in vier Schritte zerlegt werden: 1) Substratbindung im aktiven Zentrum des Enzyms, wobei möglicherweise die vorherrschende Konformation des Substrats zugunsten der Reaktion geändert wird. 2) Das Erklimmen der Reaktionsbarriere zum Übergangszustand der Reaktion durch den Reaktanten. Die Wahrscheinlichkeit, die Übergangszustandskonformation zu erreichen, kann durch Fluktuationen der Enzym- oder Solvenspositionen, die wiederum Fluktuationen der Kräfte auf die Atome des Substrats induzieren, erhöht werden. 3) Produktbildung. 4) Freisetzen des Produkts aus der Bindungstasche des Enzyms. Unglücklicherweise können nur wenige Größen, die die verschiedenen Schritte des katalytischen Prozesses charakterisieren, experimentell gemessen werden: 1) Gesamtreaktionsgeschwindigkeit. 2) Die freie Enthalpie der Ligandbindung oder des Übergangszustandsanalogs,

jedoch nicht des Substrats. 3) Die Struktur des Apo-Enzyms oder des Enzyms mit gebundenem Liganden, jedoch nicht mit gebundenem Substrat, in atomarer Auflösung. Diese drei Arten von Größen können für verschiedene Mutationen des Enzyms und für verschiedene Liganden als Funktion eines thermodynamischen Zustands gemessen werden. Im Hinblick auf den beschränkten Satz an experimentellen Daten können die Triebkräfte und der Mechanismus des katalytischen Prozesses nicht zweifelsfrei durch Experimente bestimmt werden.

Von einem theoretischen und computerorientierten Standpunkt aus liefert die quantenstatistische Mechanik die Theorie, durch welche der katalytische Prozess erklärt werden sollte. In der rechnerorientierten Praxis muss man jedoch auf starke Vereinfachungen und Näherungen der quantenstatistischen Mechanik zurückgreifen, um Ergebnisse für einen Enzym-Substrat-Komplex zu erhalten, sogar bei Verwendung der schnellsten verfügbaren Computer. Für entsprechende Übersichtsartikel verweisen wir auf Lit. [55–57]. Die miteinander reagierenden Einheiten werden quantenmechanisch, d.h. auf Auflösungs-niveau II, behandelt, während das Enzym oder ein größerer Bereich von ihm mit klassischer Mechanik, d.h. auf Niveau III, beschrieben wird. Das wässrige Solvens wird oft durch ein kontinuierliches elektrostatisches Reaktionsfeld oder explizit durch eine kleine kugelförmige Region aus Wassermolekülen des Niveaus III repräsentiert.

Wenn der quantenchemisch behandelte Bereich größer ist und ein teureres quantenchemisches Modell wie z.B. Dichtefunktionaltheorie angewendet wird, liegt die Zeitspanne, die solche QM/MM-Molekulardynamiksimulationen erreichen, in der Größenordnung von mehreren 10 Pikosekunden. Dies ist zu kurz, um die Fluktuationen der Kräfte, die durch das Enzyme und das Solvens auf die Atome des Substrates ausgeübt werden, zu erfassen. Ist man an der Wirkung der Protein- oder Solvensumgebung auf das Substrat interessiert, kann man den Reaktanten semiempirisch behandeln und ein supramolekulares Solvensmodell einbeziehen, um das Abtasten des Konfigurationsraumes zu erhöhen. Hierbei nutzt man eine recheneffiziente Art, die Solvensfreiheitsgrade zu repräsentieren, welche immer noch dielektrische und entropische Effekte berücksichtigt. Dieser Ansatz wird im Folgenden durch eine Untersuchung der beobachteten Unterschiede in der katalytischen Aktivität zweier strukturähnlicher Enzyme illustriert.

5.1. Chorismatmutase aus *Escherichia coli* und Isochorismatmutase aus *Pseudomonas aeruginosa*

Die Chorismatmutase (CM) aus *Escherichia coli* (EcCM) katalysiert die Umwandlung von Chorismat (chr) zu Prephenat (Abbildung 1).^[94] Die Isochorismat-Pyruvat-Lyase (IPL) aus *Pseudomonas aeruginosa* (PchB) dagegen katalysiert die Umwandlung von Isochorismat (ichr) zu Salicylat und Pyruvat (Abbildung 1).^[95] Die Kristallstrukturen beider Enzyme wurden mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmt^[96,97] und zeigen, dass beide Enzyme die gleiche Faltung aufweisen (Abbildung 2), trotz einer Sequenzhomologie

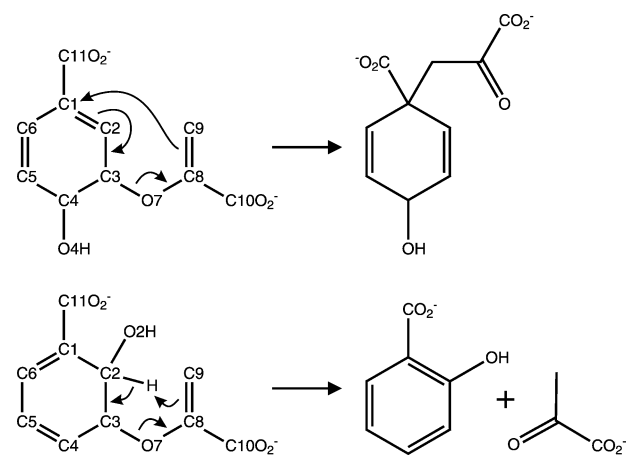


Abbildung 1. Umwandlung von Chorismat zu Prephenat (CM-katalysierte Reaktion 1) und von Isochorismat zu Salicylat und Pyruvat (IPL-katalysierte Reaktion 2).

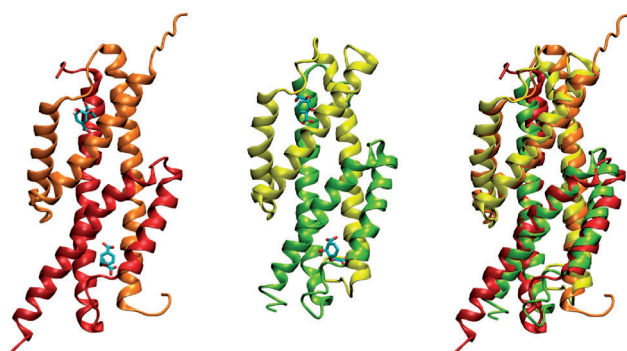


Abbildung 2. Die simulierten Enzyme. Konfigurationen nach Energie-minimierung der repräsentativen Kristallstrukturen für EcCM-chr (links) und PchB-ichr (Mitte) einschließlich ihrer Substrate. In der Darstellung der überlagerten Strukturen (rechts) wurde EcCM orange (Monomer 1) und rot (Monomer 2) und PchB gelb (Monomer 1) und grün (Monomer 2) markiert. Kohlenstoffatome in den Substraten sind cyan, Sauerstoffatome rot und Wasserstoffatome weiß gekennzeichnet.

von nur 21 % (Abbildung 3).^[95,98] PchB zeigt ebenfalls eine schwache katalytische Aktivität im Hinblick auf Chorismat, allerdings mit geringerer Effizienz als der der EcCM. Die Chorismatmutase-Aktivität des natürlichen PchB konnte durch Mutagenese von Aminosäuren verbessert werden.^[98] Diese erfolgreiche Steigerung der Aktivität eines Enzyms führte zu ähnlichen Ansätzen, um IPL-Aktivität in EcCM durch Mutagenese zu induzieren. Jedoch wurde bis zum jet-

zigen Zeitpunkt keine Spur einer IPL-Aktivität in EcCM-Mutanten, die ein PchB-ähnliches aktives Zentrum enthielten, gefunden (Don Hilvert, persönliche Mitteilung). Diese experimentellen Beobachtungen warfen die Frage auf, ob eine Modellrechnung in der Lage wäre, die Ursachen der trotz der ähnlichen räumlichen Faltung unterschiedlichen Katalyseaktivität dieser beiden Enzyme im Hinblick auf ihre jeweiligen Substrate aufzudecken. Der Schlüssel muss in den unterschiedlichen Aminosäureseitenketten, die das aktive Zentrum umgeben, liegen, da dies zu unterschiedlichen Kräften auf die Atome der Substrate oder zu unterschiedlichen Bewegungsmustern der Enzyme führt. Daher wurden vier verschiedene Enzym-Substrat-Komplexe in wässriger Lösung für 5 ns mittels Molekulardynamiksimulationen (MD) mit unterschiedlichen Auflösungs-niveaus simuliert (Tabelle 5). Ein Substrat wurde quantenchemisch (Niveau II), das andere Substrat und die Enzyme molekularmechanisch (Niveau III) und das Solvens mittels eines supramolekularen Wassermodells (Niveau V) repräsentiert. Die erhaltenen Trajektorien wurden im Hinblick auf die Substratkonformationen und auf die auf die Atome des Substrats wirkenden Kräfte, erzeugt durch die Atome der Enzyme, analysiert und verglichen.

Wir zielen dabei nicht auf eine Erklärung der katalytischen Aktivität in Form von Unterschieden in den (freien) Energiedifferenzen zwischen dem Übergangs- und Ausgangszustand für die unterschiedlichen Umgebungen wie Protein, wässrige Lösung oder Gasphase. Zur Bestimmung der Unterschiede in den (freien) Energiedifferenzen müsste man sogenanntes „Umbrella-Sampling“ entlang eines hypothetischen Übergangspfades,^[99,100] der zu einem hypothetischen Übergangszustand^[101,102] führt, anwenden. Auch zielen wir nicht auf eine Erklärung der katalytischen Aktivität in Form von „Near-Attack“-Konfigurationen des Substrats.^[103–105] Wir untersuchen nur die konformationellen Gesamtheiten der vier Enzym-Substrat-Komplexe, um Indikatoren des Effekts der unterschiedlichen Proteinumgebungen auf das Substrat herauszufiltern. Unsere Untersuchung unterscheidet sich daher in einer Reihe von Aspekten von anderen rechnergestützten Studien zur katalytischen Aktivität der Chorismatmutase: 1) Während die meisten rechnergestützten Studien die Chorismatmutase des *Bacillus subtilis* untersuchen,^[99,101,102,104–108] betrachten wir EcCM und PchB. 2) Wir untersuchen die Substratbindung an EcCM und PchB, während die meisten anderen Studien darauf abzielen, die Chorismat- oder IPL-Katalyse zu erklären.^[100] 3) Wir berechnen kein „Potential-of-Mean-Force“ entlang einer Reaktionskoordinate, sondern analysieren konfigurationelle Gesamtheiten der Enzym-Substrat-Komplexe.

Tabelle 5: Übersicht über die Simulationen.

Simulations-kennzeichen	Enzym	Substrat	Anzahl an supramolekularen Wasserteilchen	Boxvolumen [nm ³]
EcCM-chr	<i>E. coli</i> CM	Chorismat	8467	1328
EcCM-ichr	<i>E. coli</i> CM	Isochorismat	8469	1329
PchB-chr	<i>P. aeruginosa</i> IPL	Chorismat	9444	1479
PchB-ichr	<i>P. aeruginosa</i> IPL	Isochorismat	9444	1480

1(1)	11(1)	21(1)	31(1)	41(1)
EcCM: MTSENPL LAL	REKISAL DEK	LLALLA ERRE	LAVEVG KAKL	LSHRPV RDID
51(1)	61(1)	71(1)	81(1)	91(1)
RERD LLERLI	TLGKA HHLDA	HYITR LFOLI	IEDSV LTQQA	LLQOHL NKINP
1(2)	11(2)	21(2)	31(2)	41(2)
MTSENPL LAL	REKISAL DEK	LLALLA ERRE	LAVEVG KAKL	LSHRPV RDID
51(2)	61(2)	71(2)	81(2)	91(2)
RERD LLERLI	TLGKA HHLDA	HYITR LFOLI	IEDSV LTQQA	LLQOHL NKINP
1(1)	11(1)	21(1)	31(1)	41(1)
PchB: MKTPED CTGL	ADIREA IDRI	DLDIVQ ALGR	RMDYV KAASR	FKAS. EAAIPA
51(1)	61(1)	71(1)	81(1)	91(1)
PERVAAM LPE	RARWAE ENGL	DAPFVE GLFA	QIIHW. YIAEQ	IKYWRQ TRGAA
1(2)	11(2)	21(2)	31(2)	41(2)
MKTPED CTGL	ADIREA IDRI	DLDIVQ ALGR	RMDYV KAASR	FKAS. EAAIPA
51(2)	61(2)	71(2)	81(2)	91(2)
PERVAAM LPE	RARWAE ENGL	DAPFVE GLFA	QIIHW. YIAEQ	IKYWRQ TRGAA

Abbildung 3. Sequenz inklusive Sequenznummer der Reste und deren Anordnung für die dimeren Enzyme EcCM und PchB. Die Reste, die das erste aktive Zentrum umgeben, sind fett gedruckt, diejenigen, die das zweite aktive Zentrum umgeben, sind fett und kursiv gedruckt. Die Sequenznummer des Monomers steht in Klammern.

5.2. Molekulares Modell und Berechnungsverfahren

Sowohl EcCM als auch PchB sind als Dimere aktiv und haben daher zwei aktive Zentren bzw. Substratbindungszentren, welche von Aminosäureresten beider Monomere umgeben sind (Abbildung 2). Den Ergebnissen der Kristallstrukturanalyse zufolge weisen die zwei aktiven Zentren eines Dimers Unterschiede in der detaillierten atomaren Struktur auf.^[96,97] In unserem Modell mit Mehrfachauflösung wurde eines der Substrate (erstes aktives Zentrum) quantenchemisch mithilfe des semiempirischen OM3-Hamilton-Operators^[109] (wie im Programm MNDO implementiert)^[110] angewendet. Das andere Substrat und die Enzyme wurden mit dem 45A3-GROMOS-Kraftfeld für biomolekulare Systeme^[111] modelliert. Die Kraftfeldparameter des Substrats im zweiten aktiven Zentrum sind in Lit. [112] angegeben. Abbildung 3 zeigt die Aminosäuresequenzen und ihre Anordnung. Die ionisierbaren Gruppen wurden gemäß dem Standard-pK_s-Wert der Aminosäuren bei einem pH-Wert von 6.8 protoniert bzw. deprotoniert. Bei EcCM wurden die Histidine 66(2), 67(1), 71(1,2) und 95(1) am N_δ und die Histidine 43-(1,2), 66(1), 67(2) und 95(2) am N_ε protoniert. Bei PchB wurden die Histidine 84(1,2) am N_ε protoniert. Das Solvens wurde durch ein grobkörniges Wassermolekülmodell,^[63] in welchem ein supramolekulares Teilchen fünf Wassermoleküle repräsentiert, modelliert. Die Wechselwirkungen zwischen dem QM-Substrat und seiner MM-Umgebung bestehend aus Protein und supramolekularem Wasser wurden wie in Lit. [113] beschrieben modelliert. Ein Begrenzungsradius von

$R_{\text{QM/MM}} = 1.4$ nm um jedes Atom des QM-Substrats bestimmte die Partialladungen des Enzyms und der Wasserteilchen, die bei jedem Zeitschritt im QM-Hamilton-Operator berücksichtigt werden sollen. Die Wechselwirkungen zwischen dem supramolekularen Solvens und den Substraten sowie dem Protein wurde wie in Lit. [91–93] beschrieben modelliert. Für die elektrostatischen Wechselwirkungen innerhalb des Begrenzungsbereichs für nicht-bindende Wechselwirkungen wurde eine relative dielektrische Permittivität von $\epsilon_{\text{cs}} = 1$ für Interaktionen innerhalb des MM-Substrats und des Enzyms, ein Wert von $\epsilon_{\text{cs}}^{\text{mix}} = 2.3$ für Wechselwirkungen zwischen supramolekularem Wasser und Enzym bzw. zwischen supramolekularem Wasser und den Substrat-Atomen und ein Wert von $\epsilon_{\text{cs}} = 2.5$ für supramolekulare Wasser-Wasser-Wechselwirkungen festgelegt.

Alle Simulationen wurden unter Verwendung des GROMOS-Programmpakets für biomolekulare Simulation^[114–116] ausgeführt. GROMOS kann an die ausführbaren Dateien der quantenchemischen Programmpakete MNDO^[110] und TURBOMOLE^[117] gekoppelt werden.^[113]

Als Startstrukturen wurden die entsprechenden Kristallstrukturen der Dimere EcCM (PDB-Eintrag 1ECM)^[96] und PchB (PDB-Eintrag 3HGX)^[97] verwendet. Die Liganden, die sich im aktiven Zentrum befinden, wurden durch Chorismat bzw. Isochorismat ersetzt, um die vier Enzym-Substrat-Komplexe in Tabelle 5 zu erhalten. Die Substrate wurden energieminiert, wobei die Bewegung der Proteinatome durch eine harmonische Kraftkonstante von 2.5×10^4 kJ mol⁻¹ nm⁻² eingeschränkt wurde.

Das Solvat wurde in einem Kubus mit supramolekularen Wasserteilchen umgeben. Die minimale Distanz zwischen den nicht-Wasserstoffatomen und der Kubuswand betrug dabei 1.6 nm (Tabelle 5). Unter Verwendung periodischer Randbedingungen wurde das Solvens äquilibriert, während die Bewegung der Solvatatome wie in Lit. [92] beschrieben eingeschränkt wurde. Die MD-Simulationen wurden bei einer Temperatur von 310 K und einem Druck von 1 atm ausgeführt. Das Solvat und das Solvens wurden mithilfe der Weak-Coupling-Methode^[118] und einer Temperaturkopplungszeit von $\tau_T = 0.1$ ps, einer Druckkopplungszeit von $\tau_p = 0.5$ ps und einer isothermen Kompressibilität von $\kappa_p = 4.575 \times 10^{-4}$ (kJ mol⁻¹ nm⁻³)⁻¹ getrennt an Wärme- und Druckbäder gekoppelt. Die Newton'schen Bewegungsgleichungen wurden mit dem Leap-Frog-Schema^[119] mit einem Zeitschritt von 0.5 fs integriert. Die Bindungslängen im Enzym wurden unter Verwendung des SHAKE-Algorithmus^[120] mit einer relativen geometrischen Genauigkeit von 10^{-4} auf ihre Idealwerte festgesetzt. Für die Auswertung der nicht-bindenden Wechselwirkungen wurde ein Schema mit drei Bereichen gewählt. Im kurzreichweitigen Bereich wurde ein Begrenzungsradius von 1.4 nm und im Bereich mittel- bis weitreichender Interaktionen ein Radius von 2.0 nm mit einer Aktualisierungsfrequenz der Paarlste von 20 Zeitschritten verwendet. Für weitreichende elektrostatische Wechselwirkungen wurde eine Reaktionsfeldkraft^[121] unter Verwendung der experimentellen dielektrischen Permittivität von $\epsilon_{\text{eff}} = 78.5$ auf die Proteinatome und Wasserteilchen angewendet. Das System wurde 25 ps äquilibriert. Abbildung 4 zeigt eine Abbildung der simulierten Systeme.

Die Analyse wurde auf Gesamtheiten von Systemkonfigurationen angewendet, die in Zeitintervallen von 0.25 ps aus den Simulationen extrahiert wurden.

Die Projektion f_{ij} der Kraft \vec{f}_i , die von den Enzymen auf ein Atom i des Substrats in Richtung des Atoms j (Abbildung 6) des Substrats ausgeübt wird, wurde wie folgt berechnet:

$$f_{ij} = \frac{\vec{f}_i \cdot \vec{r}_{ij}}{|\vec{r}_{ij}|}, \quad (1)$$

wobei $\vec{r}_{ij} = \vec{r}_i - \vec{r}_j$. Die durch die Enzyme auf die Atome des QM-Substrats ausgeübten Kräfte wurden aus den MD-Trajektorien rückgerechnet. Hierfür wurden die über die Trajektorien gemittelten OM3-Nettoladungen (siehe Tabelle S1, Hintergrundinformationen) der Atome des QM-Substrats und die entsprechenden Van-der-Waals-Parameter des GROMOS-MM-Kraftfelds (45A3) im GROMOS-Ausdruck für nicht-bindende Coulomb- und Van-der-Waals-Kräfte verwendet.

5.3. Konformationsanalyse der Substrate durch Auswertung von Atom-Atom-Distanzen

Der Ablauf der durch EcCM katalysierten Reaktion 1 erfordert das Spalten der Chorismat-C3-O7-Bindung sowie die Bildung einer Bindung zwischen

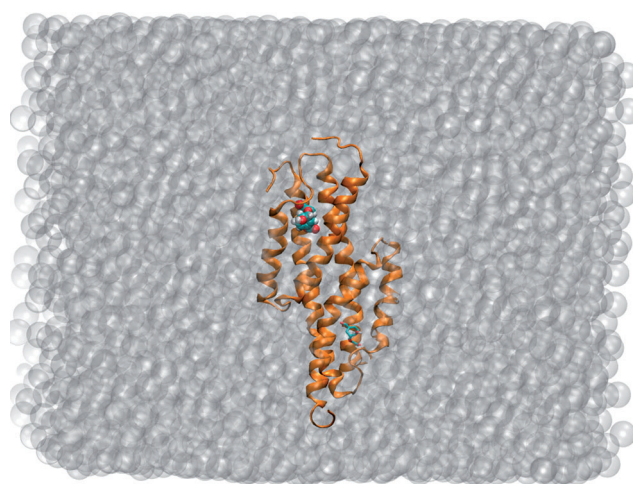


Abbildung 4. Einer der vier simulierten Enzym-Substrat-Kombinationen in supramolekularem Wasser. Die Atome des QM-Substrats sind kugelförmig fett markiert, während das MM-Substrat schmäler dargestellt ist. Substrate sind cyan, das Enzym orange und die supramolekularen Wasserteilchen transparent-grau hervorgehoben.

den Atomen C1 und C9. Im Verlauf der durch PchB katalysierten Reaktion 2 ist ebenfalls die Spaltung der Isochorismat-C3-O7-Bindung erforderlich, wonach jedoch die Abstraktion eines Wasserstoffs an der Position C2 durch den C9-Kohlenstoff erfolgt (Abbildung 1). Die Verteilungen der Abstände C1–C9 und C2–C9 im Verlauf der MD-Simulation sind in Abbildung 5 dargestellt. Die Abstände zwischen C1 und C9, die für den Ablauf der Reaktion 1 kleiner sein soll-

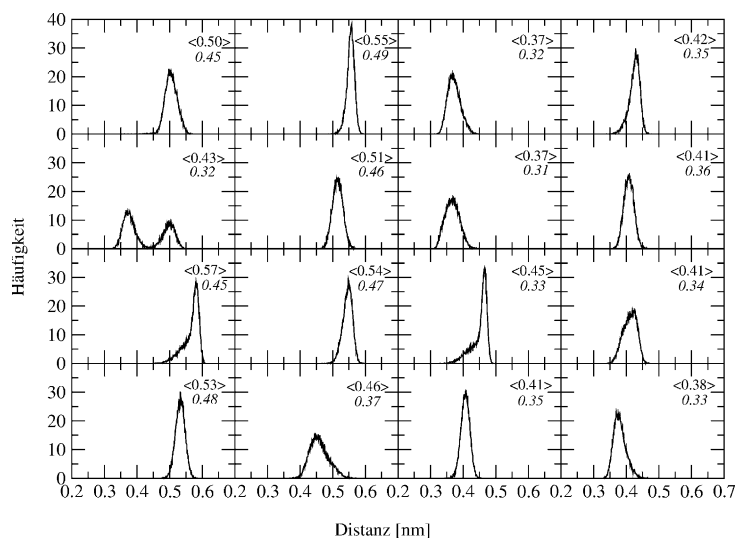


Abbildung 5. Verteilung der Distanzen zwischen den Atomen C1–C9 (erste zwei Spalten) und C2–C9 (letzte zwei Spalten) für die Substrate Chorismat (erste und dritte Spalte) und Isochorismat (zweite und vierte Spalte) in den vier Simulationen. Für jedes Enzym sind zwei Sätze von Distanzen gegeben, da es zwei Substrate, eines in jedem katalytischen Zentrum des Dimers, gibt. Von oben nach unten findet man die Verteilungen für die zwei aktiven Zentren der EcCM (erste Reihe QM-Substrat, zweite Reihe MM-Substrat) und der PchB (dritte Reihe QM-Substrat, vierte Reihe MM-Substrat). Die Durchschnittswerte, $\langle \dots \rangle$, und die Minimalabstände (in nm) sind jeweils in den oberen rechten Ecken angegeben.

ten, sind für das QM-Substrat in der EcCM-Simulation (erste Zeile) tatsächlich kleiner als in der PchB-Simulation (dritte Zeile). Sogar eine kurze Zeitperiode, während der sich die C1- und C9-Atome nahekommen, würde ausreichen, um einen Elektronentransfer und die Bildung einer chemischen Bindung zu ermöglichen. Daher ist es interessant, neben den Durchschnittswerten auch die kleinsten auftretenden Abstände zwischen den kritischen Atomen in der Simulation auszuwerten. Der kleinste C1-C9-Abstand, der in Chorismat gemessen wurde, beträgt 0.32 nm für die EcCM-Simulation und 0.45 nm für die PchB-Simulation. Folglich bewirkt das Enzym EcCM eine Konformation des Substrats Chorismat, in der dessen Umwandlung zum Produkt Prephenat wahrscheinlicher ist, während dies für das Enzym PchB nicht beobachtet wurde. Die C2-C9-Abstände in Isochorismat (vierte Spalte), die für die H-Abstraktion am C2 (Reaktion 2) kleiner sein sollten, sind in der PchB-Simulation mit Mittelwerten von 0.41 nm für das QM-Substrat und 0.38 nm für das MM-Substrat tatsächlich geringer als in der entsprechenden EcCM-Simulation mit Mittelwerten von 0.42 und 0.41 nm. Daher begünstigt das Enzym PchB eine Konformation des Substrats Isochorismat, in welcher seine Umwandlung zu den Produkten Salicylat und Pyruvat wahrscheinlicher ist, während EcCM dies nicht bewirkt.

Die Abstandsanalyse zeigt, dass EcCM und PchB beide nicht in der Lage sind, die „nicht-natürlichen“ Substrate, Isochorismat für EcCM (obere zwei Zeilen, vierte Spalte) und Chorismat für PchB (untere zwei Zeilen, erste Spalte) in eine Konformation zu überführen, in der die „nicht-natürliche“ Reaktion wahrscheinlicher ist.

5.4. Vom Enzym auf das Substrat ausgeübte Kräfte

Die Kräfte, die durch die Enzyme auf die Atome C1 und C9 des Chorismats und die Atome C2 und C9 des Isochorismats entlang der Richtung, die diese Atome verbindet, ausgeübt werden, sind in Abbildung 6 dargestellt. Gemäß Gleichung (1) bedeutet eine negative Kraft f_{ij} , dass sie Atom i auf Atom j zubewegt. Je negativer f_{ij} ist, umso mehr wird das Substrat in eine für die Reaktion bevorzugte Konfiguration gedrängt. Die Kräfte auf Chorismat (linke Spalten) sind im Fall des EcCM (obere zwei Zeilen) für das C1-Atom (linke Spalte) negativer als im Fall des PchB (untere zwei Zeilen). Diese Beobachtung trifft jedoch nicht auf das C9-Atom (zweite Spalte) des QM-Substrats (erste und dritte Zeile) zu. Dies könnte mit den Näherungen zusammenhängen, die durch die Verwendung der über die MD-Trajektorien gemittelten OM3-Nettoladungen gemacht wurden. Die Kräfte auf Isochorismat (rechte Spalten) sind im Fall des PchB (untere zwei Zeilen) negativer als im Fall des EcCM (obere zwei Zeilen). Eine Ausnahme bilden die Kräfte auf das C2-Atom des MM-Substrats. Insgesamt besteht eine leichte Präferenz jedes Substrats für sein eigenes Enzym.

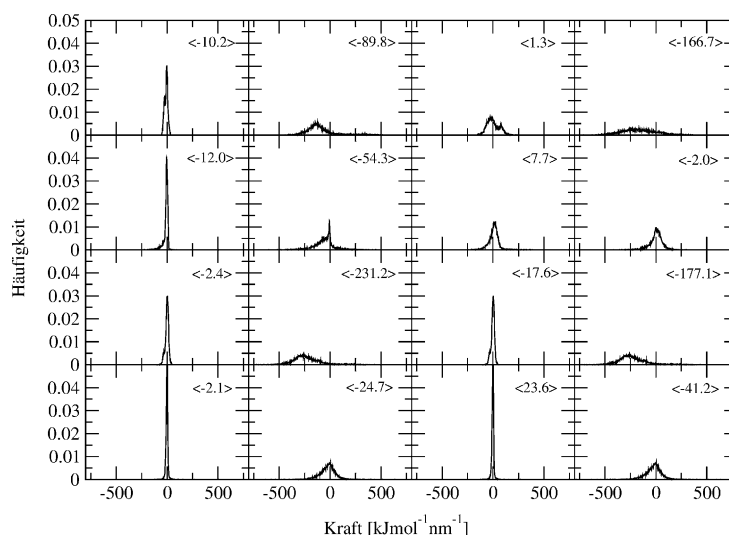


Abbildung 6. Verteilung der projizierten Kräfte f_{C1-C9} (erste Spalte), f_{C9-C1} (zweite Spalte), f_{C2-C9} (dritte Spalte) und f_{C9-C2} (vierte Spalte), die durch das Enzym auf die Substrate Chorismat (erste und zweite Spalte) und Isochorismat (dritte und vierte Spalte) in den vier Simulationen ausgeübt wurden. Für jedes Enzym sind zwei Sätze von Kräften gegeben, da es zwei Substrate, eines in jedem katalytischen Zentrum des Dimers, gibt. Die Verteilungen sind (von oben nach unten) für die zwei Untereinheiten der EcCM (erste Reihe QM-Substrat, zweite Reihe MM-Substrat) und für PchB (dritte Reihe QM-Substrat, vierte Reihe MM-Substrat) abgebildet. Die Durchschnittswerte (in $\text{kJ mol}^{-1} \text{nm}^{-1}$) sind jeweils in den oberen rechten Ecken angegeben.

Detailliertere Analysen der Kräfte, die von den verschiedenen Resten der Enzyme auf die Substratome ausgeübt werden, könnten den Schlüssel zum Ursprung der unterschiedlichen Katalyseaktivität von EcCM und PchB liefern. Jedoch liegen diese Analysen nicht im Rahmen dieses Aufsatzes.

6. Diskussion

Jede Bemühung, mithilfe von theoretischer rechnergestützter Modellierung experimentelle Beobachtungen zu interpretieren, erfordert die Wahl 1) der essentiellen Freiheitsgrade, d.h. der Wechselwirkungen (d.h. funktionale Form und Parametrisierung), die die Bewegung entlang dieser Freiheitsgrade bestimmen, 2) einer Methode zur Erzeugung einer Boltzmann-Gesamtheit oder einer dynamischen Trajektorie von Konfigurationen und 3) der Art, wie die Wechselwirkungen mit der äußeren Umgebung repräsentiert werden. In der Chemie können essentielle Freiheitsgrade elektronischer, nuklearer, atomarer, molekularer oder supramolekularer Natur sein. Auf jedem dieser Auflösungsniveaus sind verschiedene Näherungen und Annahmen erforderlich, um ein rechnerisch mögliches Modell zu entwerfen. Jedoch hat die Genauigkeit und das Vorhersagepotential der Computermodellierungen, aus den in der Einleitung genannten sechs Gründen, seine Grenzen, vor allem bei der Untersuchung des Verhaltens komplexer molekularer Vielteilchensysteme, welches durch elektronische und molekulare Freiheitsgrade mit bedeutenden elektrostatischen und

entropischen Anteilen bestimmt wird. Die elektrostatischen und entropischen Anteile charakterisieren die verschiedenen Zustände des Systems. In solchen Fällen ist die Entwicklung eines Modells, das verschiedene Auflösungs-niveaus, in Raum oder in Zeit, enthält, ein praktikabler, aber auch sehr anspruchsvoller Ansatz, um die Recheneffizienz ohne Verlust an Genauigkeit zu erhöhen. In den hier vorgestellten Beispielen bewirkte das Einsetzen eines supramolekularen anstatt atomaren Wassermodells für das Solvens eine Erhöhung der Rechengeschwindigkeit um einen Faktor 6. Damit waren die Simulationen mit drei Auflösungs-niveaus dreimal schneller als die vergleichbaren Simulationen mit ausschließlich atomarer Auflösung.^[112]

Jedes rechnergestützte Modell wird Ergebnisse liefern. Jedoch ergibt dies nur dann Sinn, wenn die physiko-chemische Grundlage der Ergebnisse, des modellierten Mechanismus, der Realität entspricht. Dies wird nicht der Fall sein, wenn ein korrekter Mechanismus durch zu grobe Annahmen und Näherungen verfälscht wird. In diesem Fall bleiben nur „bunte Bildchen“.

Der vorliegende Aufsatz zielt darauf ab, einen Überblick über die Herausforderungen zu geben, die die Entwicklung von Modellen mit mehreren Auflösungs-niveaus zur Repräsentation eines chemischen Prozesses stellen. Obwohl für jedes einzelne Auflösungs-niveau, sei es quantenmechanisch, klassisch-mechanisch, atomar, supraatomar oder supramolekular, mehr oder weniger robuste Modelle über die letzten Jahrzehnte hinweg entwickelt worden sind, stellt ihre Integration in ein Modell mit mehreren Auflösungs-niveaus eine schwierigere Aufgabe dar. Die Schwierigkeit entsteht vor allem durch die verschiedenen Ausmaße an Energie, Entropie und Teilchengrößen, die in den verschiedenen Niveaus vorhanden sind. Zudem muss die Quantenmechanik mit der klassischen Mechanik gekoppelt werden. Diese Beziehung leidet jedoch immer noch unter ungelösten Problemen.

Hier wurde ein Überblick über die Auswahlmöglichkeiten betreffend der Annahmen und Näherungen im Hinblick auf die Freiheitsgrade und Wechselwirkungen gegeben, die essentiell sind, um ein bestimmtes chemisches Phänomen oder einen chemischen Prozess zu beschreiben. Das Beispiel der Untersuchung der unterschiedlichen Katalyseaktivität zweier strukturähnlicher Enzyme im Hinblick auf ihre entsprechenden wechselseitigen Substrate unter Anwendung von Molekulardynamiksimulationen mit mehreren Auflösungs-niveaus diente nur dazu, den Nutzen und die Anwendbarkeit molekularer Modellierung für Fragestellungen, die von praktischem biochemischem Interesse sind, jedoch nicht experimentell beantwortet werden können, zu demonstrieren. Wir hatten nicht die Absicht, einen Überblick über 125 Jahre theoretische rechnergestützte Chemie zu geben, welches eine fast unmögliche Aufgabe wäre. Vielmehr hatten wir die Absicht, der *Angewandten Chemie*, die bedeutend zur Entwicklung der Chemie beigetragen hat, ein Geburtstagsgeschenk zu machen – in Form einer Illustration des aktuellen Stands der theoretischen rechnergestützten Chemie und der Beschreibung von einigen der vielen Herausforderungen auf diesem Forschungsgebiet, mit denen es immer noch aufgenommen werden muss.

Diese Arbeit wurde durch das National Center of Competence in Research (NCCR), die Swiss National Science Foundation (Grant 200020-137827) und das European Research Council (Grant 228076) unterstützt.

Eingegangen am 9. Juli 2012,
veränderte Fassung am 12. September 2012
Online veröffentlicht am 18. Februar 2013

- [1] S. Riniker, J. R. Allison, W. F. van Gunsteren, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 12423–12430.
- [2] A. Glättli, X. Daura, W. F. van Gunsteren, *J. Chem. Phys.* **2002**, 116, 9811–9828.
- [3] B. Guillot, *J. Mol. Liq.* **2002**, 101, 219–260.
- [4] W. F. van Gunsteren, H. J. C. Berendsen, *Mol. Phys.* **1977**, 34, 1311–1327.
- [5] M. P. Allen, D. J. Tildesley, *Computer Simulation of Liquids*, Clarendon, Oxford, **1987**.
- [6] H. C. J. Berendsen, *Simulating the Physical World: Hierarchical Modeling from Quantum Mechanics to Fluid Dynamics*, Cambridge University Press, Cambridge, **2007**.
- [7] R. P. Feynman, A. R. Hibbs, *Quantum Mechanics and Path Integrals*, McGraw-Hill, New York, **1965**.
- [8] D. Chandler, P. G. Wolynes, *J. Chem. Phys.* **1981**, 74, 4078–4095.
- [9] B. J. Berne, D. Thirumalai, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1986**, 37, 401–424.
- [10] G. G. Balint-Kurti, R. N. Dixon, C. C. Marston, *Int. Rev. Phys. Chem.* **1992**, 11, 317–344.
- [11] R. Kosloff, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1994**, 45, 145–178.
- [12] N. Balakrishnan, C. Kalyanaraman, N. Sathyamurthy, *Phys. Rep.* **1997**, 280, 79–144.
- [13] H. D. Meyer, G. A. Worth, *Theor. Chem. Acc.* **2003**, 109, 251–267.
- [14] J. Mavri, H. J. C. Berendsen, W. F. van Gunsteren, *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 13469–13476.
- [15] H. J. C. Berendsen, J. Mavri, *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 13464–13468.
- [16] N. Makri, *Comput. Phys. Commun.* **1991**, 63, 389–414.
- [17] D. Bohm, *Phys. Rev.* **1952**, 85, 166–179.
- [18] D. Bohm, *Phys. Rev.* **1952**, 85, 180–193.
- [19] J. C. Tully, R. K. Preston, *J. Chem. Phys.* **1971**, 55, 562.
- [20] J. C. Tully, *J. Chem. Phys.* **1990**, 93, 1061–1071.
- [21] M. Barbatti, *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2011**, 1, 620–633.
- [22] T. J. Martinez, M. Ben-Nun, R. D. Levine, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 7884–7895.
- [23] T. J. Martinez, M. Ben-Nun, G. Ashkenazi, *J. Chem. Phys.* **1996**, 104, 2847–2856.
- [24] T. J. Martinez, R. D. Levine, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, 259, 252–260.
- [25] A. Toniolo, C. Ciminelli, M. Persico, T. J. Martinez, *J. Chem. Phys.* **2005**, 123, 234308.
- [26] A. Warshel, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* **1976**, 103, 227–249.
- [27] M. J. Field, P. A. Bash, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **1990**, 11, 700–733.
- [28] D. Bakowies, W. Thiel, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 10580–10594.
- [29] R. Car, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **1985**, 55, 2471–2474.
- [30] R. Egger, C. H. Mak, *J. Chem. Phys.* **1993**, 99, 2541–2549.
- [31] D. H. Li, G. A. Voth, *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 10425–10431.
- [32] C. Chakravarty, *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101, 1878–1883.
- [33] S. Klein, M. J. Bearpark, B. R. Smith, M. A. Robb, M. Olivucci, F. Bernardi, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 292, 259–266.
- [34] N. Makri, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1999**, 50, 167–191.

- [35] G. Pierdominici-Sottile, S. F. Alberti, J. Palma, *Adv. Quantum Chem.* **2010**, 59, 247–282.
- [36] D. T. Major, M. Garcia-Viloca, J. L. Gao, *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, 2, 236–245.
- [37] J. Gao, K.-Y. Wong, D. T. Major, *J. Comput. Chem.* **2008**, 29, 514–522.
- [38] L. V. Schäfer, G. Groenhof, M. Boggio-Pasqua, M. A. Robb, H. Grubmüller, *PLoS Comput. Biol.* **2008**, 4, 1–14.
- [39] C. Ciminelli, G. Granucci, M. Persico, *Chem. Phys.* **2008**, 349, 325–333.
- [40] M. Ruckebauer, M. Barbatti, B. Sellner, T. Müller, H. Lischka, *J. Phys. Chem. A* **2010**, 114, 12585–12590.
- [41] O. Weingart, P. Altoe, M. Stenta, A. Bottoni, G. Orlandi, M. Garavelli, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 3645–3648.
- [42] Z. G. Lan, Y. Lu, E. Fabiano, W. Thiel, *ChemPhysChem* **2011**, 12, 1989–1998.
- [43] A. M. Virshup, C. Punwong, T. V. Pogorelov, B. A. Lindquist, C. Ko, T. J. Martinez, *J. Phys. Chem. B* **2009**, 113, 3280–3291.
- [44] A. R. Dinner, X. Lopez, M. Karplus, *Theor. Chem. Acc.* **2003**, 109, 118–124.
- [45] K. Nam, J. L. Gao, D. M. York, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, 1, 2–13.
- [46] P. Schäfer, D. Riccardi, Q. Cui, *J. Chem. Phys.* **2005**, 123, 014905.
- [47] B. A. Gregersen, D. M. York, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 536–556.
- [48] B. A. Gregersen, D. M. York, *J. Comput. Chem.* **2006**, 27, 103–115.
- [49] D. Riccardi, P. Schaefer, Y. Yang, H. B. Yu, N. Ghosh, X. Prat-Resina, P. König, G. H. Li, D. G. Xu, H. Guo, M. Elstner, Q. Cui, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 6458–6469.
- [50] H. M. Senn, W. Thiel in *Topics in Current Chemistry*, Vol. 268, *QM/MM Methods for Biological Systems*, Springer, Berlin, **2007**, Kapitel „Atomistic Approaches in Modern Biology: From Quantum Chemistry to Molecular Simulations“, S. 173–290.
- [51] T. Benighaus, W. Thiel, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, 4, 1600–1609.
- [52] T. Benighaus, W. Thiel, *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, 5, 3114–3128.
- [53] T. Benighaus, W. Thiel, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, 7, 238–249.
- [54] U. C. Singh, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **1986**, 7, 718–730.
- [55] H. M. Senn, W. Thiel, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 1220–1254; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 1198–1229.
- [56] O. Acevedo, W. L. Jorgensen, *Acc. Chem. Res.* **2010**, 43, 142–151.
- [57] K. E. Ranaghan, A. J. Mulholland, *Int. Rev. Phys. Chem.* **2010**, 29, 65–133.
- [58] M. Levitt, S. Lifson, *J. Mol. Biol.* **1969**, 46, 269–279.
- [59] W. F. van Gunsteren, M. Karplus, *Macromolecules* **1982**, 15, 1528–1544.
- [60] D. Juchli, U. Stocker, W. F. van Gunsteren, *Mol. Simul.* **2003**, 29, 123–138.
- [61] M. Müller, K. Katsov, M. Schick, *Phys. Rep.* **2006**, 434, 113–176.
- [62] W. F. van Gunsteren, F. J. Luque, D. Timms, A. E. Torda, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1994**, 23, 847–863.
- [63] S. Riniker, W. F. van Gunsteren, *J. Chem. Phys.* **2011**, 134, 084110.
- [64] S. J. Marrink, A. H. de Vries, A. E. Mark, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 750–760.
- [65] S. J. Marrink, H. J. Risselada, S. Yefimov, D. P. Tieleman, A. H. de Vries, *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111, 7812–7824.
- [66] W. Shinoda, R. Devane, M. L. Klein, *Mol. Simul.* **2007**, 33, 27–36.
- [67] W. F. van Gunsteren, J. Dolenc, A. E. Mark, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2008**, 18, 149–153.
- [68] W. Tschöp, K. Kremer, O. Hahn, J. Batoulis, T. Bürger, *Acta Polym.* **1998**, 49, 75–79.
- [69] G. Milano, F. Müller-Plathe, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 18609–18619.
- [70] S. Izvekov, G. A. Voth, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 2463–2473.
- [71] B. Hess, S. Leon, N. F. A. van der Vegt, K. Kremer, *Soft Matter* **2006**, 2, 409–414.
- [72] A. Y. Shih, P. L. Freddolino, S. G. Sligar, K. Schulten, *Nano Lett.* **2007**, 7, 1692–1696.
- [73] A. P. Heath, L. E. Kavrakli, C. Clementi, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2007**, 68, 646–661.
- [74] T. Carpenter, P. J. Bond, S. Khalid, M. S. P. Sansom, *Biophys. J.* **2008**, 95, 3790–3801.
- [75] A. J. Rzepiela, L. V. Schäfer, N. Goga, H. J. Risselada, A. H. de Vries, S. J. Marrink, *J. Comput. Chem.* **2010**, 31, 1333–1343.
- [76] A. Samiotakis, D. Homouz, M. S. Cheung, *J. Chem. Phys.* **2010**, 132, 175101.
- [77] M. Christen, W. F. van Gunsteren, *J. Chem. Phys.* **2006**, 124, 154106.
- [78] E. Lyman, F. M. Ytreberg, D. M. Zuckerman, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, 96, 28105.
- [79] P. Liu, G. A. Voth, *J. Chem. Phys.* **2007**, 126, 045106.
- [80] M. Praprotnik, L. Delle Site, K. Kremer, *J. Chem. Phys.* **2005**, 123, 224106.
- [81] B. Ensing, S. O. Nielsen, P. B. Moore, M. L. Klein, M. Parrinello, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, 3, 1100–1105.
- [82] A. Heyden, D. G. Truhlar, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, 4, 217–221.
- [83] J. H. Park, A. Heyden, *Mol. Simul.* **2009**, 35, 962–973.
- [84] S. Poblete, M. Praprotnik, K. Kremer, L. Delle Site, *J. Chem. Phys.* **2010**, 132, 114101.
- [85] C. Junghans, S. Poblete, *Comput. Phys. Commun.* **2010**, 181, 1449–1454.
- [86] M. Neri, C. Anselmi, M. Cascella, A. Maritan, P. Carloni, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, 95, 218102.
- [87] Q. Shi, S. Izvekov, G. A. Voth, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 15045–15048.
- [88] J. Michel, M. Orsi, J. W. Essex, *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112, 657–660.
- [89] M. Masella, D. Borgis, P. Cuniasse, *J. Comput. Chem.* **2008**, 29, 1707–1724.
- [90] A. J. Rzepiela, M. Louhivuori, C. Peter, S. J. Marrink, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 10437–10448.
- [91] S. Riniker, W. F. van Gunsteren, *J. Chem. Phys.* **2012**, 137, 044120.
- [92] S. Riniker, A. P. Eichenberger, W. F. van Gunsteren, *Eur. Biophys. J.* **2012**, 41, 647–661.
- [93] S. Riniker, A. P. Eichenberger, W. F. van Gunsteren, *J. Phys. Chem. B* **2012**, 116, 8873–8879.
- [94] E. Haslam, *Shikimic Acid: Metabolism and Metabolites*, Wiley, New York, **1993**.
- [95] C. Gaille, P. Kast, D. Haas, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 21768–21775.
- [96] H. Goerisch, *Biochemistry* **1978**, 17, 3700–3705.
- [97] J. Zaitseva, J. Lu, K. L. Olechowski, A. L. Lamb, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 33441–33449.
- [98] D. Kunzler, S. Sasso, M. Gamper, D. Hilvert, P. Kast, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 32827–32834.
- [99] S. Martí, J. Andres, V. Moliner, E. Silla, I. Tunon, J. Bertran, *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 984–991.
- [100] S. Martí, J. Andres, V. Moliner, E. Silla, I. Tunon, J. Bertran, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 16156–16161.
- [101] F. Claeysens, K. E. Ranaghan, F. R. Manby, J. N. Harvey, A. J. Mulholland, *Chem. Commun.* **2005**, 5065–5070.

- [102] A. Crespo, M. A. Marti, D. A. Estrin, A. E. Roitberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6940–6941.
- [103] T. C. Bruice, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 139–148.
- [104] M. Štrajbl, A. Shurki, M. Kato, A. Warshel, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10228–10237.
- [105] K. E. Ranaghan, A. J. Mulholland, *Chem. Commun.* **2004**, 1238–1239.
- [106] H. Guo, Q. Cui, W. N. Lipscomb, M. Karplus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 9032–9037.
- [107] T. Ishida, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 7104–7118.
- [108] F. Claeysens, K. E. Ranaghan, N. Lawan, S. J. Macrae, F. R. Manby, J. N. Harvey, A. J. Mulholland, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 1578–1585.
- [109] „Semiempirische Verfahren mit Orthogonalisierungskorrekturen: Die OM3 Methode“: M. Scholten, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2003**.
- [110] W. Thiel, MNDO99 v. 6.1 ed., Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mülheim an der Ruhr, **2003**.
- [111] L. Schuler, X. Daura, W. F. van Gunsteren, *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 1205–1218.
- [112] A. Choutko, W. F. van Gunsteren, *Prot. Sci.* **2012**, eingereicht.
- [113] K. Meier, N. Schmid, W. F. van Gunsteren, *J. Comput. Chem.* **2012**, *33*, 2108–2117.
- [114] N. Schmid, C. D. Christ, M. Christen, A. P. Eichenberger, W. F. van Gunsteren, *Comput. Phys. Commun.* **2011**, *33*, 340–353.
- [115] A. P. E. Kunz, J. R. Allison, D. P. Geerke, B. A. C. Horta, P. H. Hünenberger, S. Riniker, N. Schmid, W. F. van Gunsteren, *J. Comput. Chem.* **2012**, *33*, 340–353.
- [116] W. F. van Gunsteren et al. <http://www.gromos.net>.
- [117] R. Ahlrichs et al. <http://www.cosmologic.de/turbomole.html>.
- [118] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, J. R. Haak, *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 3684–3690.
- [119] R. W. Hockney, J. W. Eastwood, *Computer Simulation using Particles*, McGraw-Hill, **1981**.
- [120] J. P. Ryckaert, G. Ciccotti, H. J. C. Berendsen, *J. Comput. Phys.* **1977**, *23*, 327–341.
- [121] I. G. Tironi, R. Sperb, P. E. Smith, W. F. van Gunsteren, *J. Chem. Phys.* **1995**, *102*, 5451–5459.