

A58: Molekulardynamik-Simulation und Strukturanalyse eines Glycin-Peptids

Der Versuch findet im Computerraum 406, Geb. 30.44 statt!

Bitte beachten: Bringen Sie ein geeignetes Speichermedium (z.B. USB-Stick) zum Praktikum mit!

In der theoretischen Chemie werden häufig Methoden verwendet, die darauf beruhen (durch Lösen der Schrödinger-Gleichung) die elektronische Struktur von niedermolekularen Verbindungen zu bestimmen. Für größere Systeme, die aus mehreren hunderttausend Atomen bestehen (wie z.B. Proteine oder DNA) ist der Rechenaufwand enorm und nicht mehr sinnvoll. Speziell wenn man Prozesse wie die Faltung von Proteinen untersuchen möchte, ist es meist wichtig eine lange Zeitspanne abzudecken und die exakte elektronische Struktur des Systems muss oft nicht einmal bekannt sein. Für diese Systeme greift man auf klassische Kraftfelder zurück, die (wie der Name schon sagt) auf der klassischen Mechanik beruhen.

Ziel des Versuches ist es, eine Einführung in die Kraftfeldmethoden und molekulardynamische Simulation zu geben, um mit deren Hilfe ein besseres Verständnis der Struktur und Stabilität von Biomolekülen zu erlangen. Dabei soll ebenfalls ein Einblick in die Art der Auswertung solcher Simulationen gegeben werden.

1 Empirische Kraftfelder: Molecular Mechanics (MM)

Empirische Kraftfeldmodelle beschreiben die Energie eines Molekül durch klassische Terme. Dabei werden die bindenden (starken) und nichtbindenden (schwachen) Wechselwirkungen durch verschiedene Kraftfeld-Terme beschrieben, die mehrere Parameter zu Hilfe nehmen. Diese Parameter müssen vorher aus Experimenten oder genauen quantenchemischen Rechnungen bestimmt werden.

1.1 Bindende Terme

1.1.1 Bindungen

Das Morse Potential Abb. (1) kann die Dissoziation einer Bindung beschreiben und hat die Form:

$$E(r) = D_e (1 - \exp[-\alpha(r - r_0)])^2 \quad (1)$$

Dabei beschreibt D_e die Dissoziationsenergie, die für das Brechen der Bindung nötig ist. r_0 beschreibt die Kern-Kern-Gleichgewichtslage (geringste potentielle Energie), r die Auslenkung aus dieser und α die Kraftkonstante der Bindung ("Steifigkeit des Potentials"). Obwohl dieses Potential eine gute Beschreibung der chemischen Bindung erlaubt, ist es nicht effizient für die empirische Modellierung verwendbar.

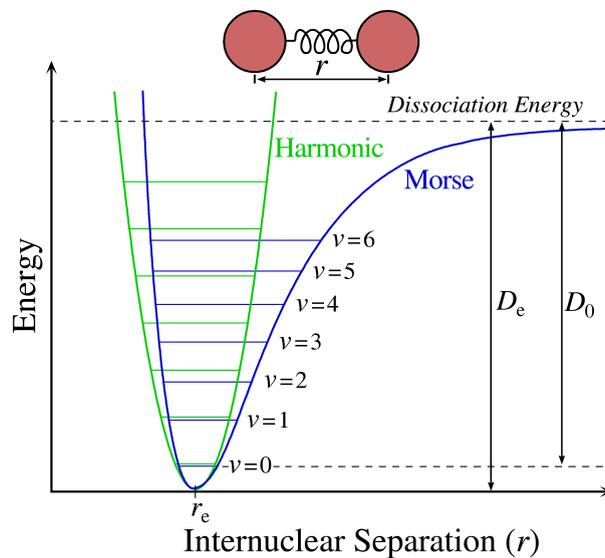


Abbildung 1: Das Morse Potential und die harmonische Näherung.

Man verwendet daher meist eine Näherung des Morse Potentials, welche durch eine Taylorreihen-Entwicklung erhalten wird:

$$E(r) = E(r_0) + \frac{dE}{dr}(r_0) \cdot (r - r_0) + \frac{1}{2} \frac{d^2E}{dr^2}(r_0) \cdot (r - r_0)^2 + \dots \quad (2)$$

Bricht man diese Entwicklung nach dem zweiten Term ab, so erhält man die in Kraftfeldern oft benutzte harmonische Näherung.

Die Konstante $E(r_0)$ wird per Definition zu Null gesetzt und im Gleichgewicht gilt $\frac{dE}{dr}(r_0) = 0$ (da Minimum). Mit der Definition der Kraftkonstante als $k = \frac{d^2E}{dr^2}(r_0)$ erhält man:

$$E(r) = \frac{1}{2} k (r - r_0)^2 \quad (3)$$

Der Nachteil an dieser Methodik ist, dass ein harmonisches Potential für große Abstände gegen unendliche Werte geht. Damit sind für Chemiker wichtige Prozesse wie Bindungsbrüche und Bindungsbildung nicht möglich.

1.1.2 Winkelterme

Der Bindungswinkel zwischen drei Atomen wird ebenfalls über einen harmonischen Ansatz modelliert, mit dem Unterschied, dass man statt dem Abstand r den Winkel θ benutzt und andere Parameter für k und θ_0 braucht

$$E_{bend}(\theta) = \frac{1}{2} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (4)$$

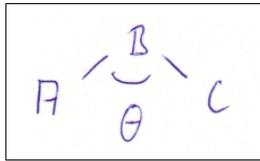


Abbildung 2: Bindungswinkel θ zwischen drei Atomen.

1.1.3 Torsionswinkel

Torsions- oder Diederwinkel sind Winkel, die eine Rotation von zwei Atomen um eine Bindung beschreiben. Abb. 3 zeigt am anschaulichen Beispiel von Ethan und anhand der Newman-Projektion den Diederwinkel ω zwischen den markierten Wasserstoffen.

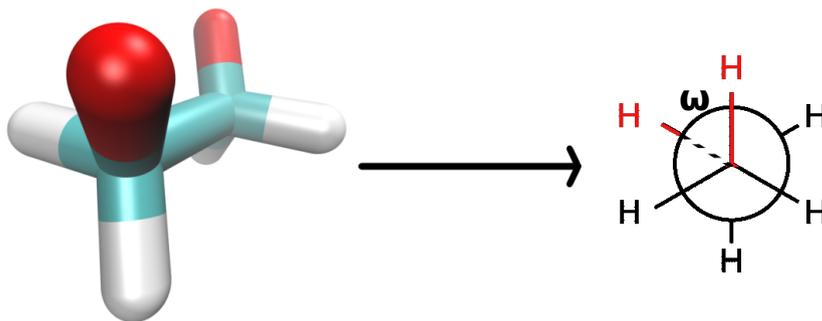


Abbildung 3: Der Diederwinkel zwischen zwei rot markierten Wasserstoffen in Ethan und Darstellung über die Newman-Projektion (das Molekül wird so gedreht, dass man direkt durch die C-C Bindung sieht).

Zur Beschreibung des Torsionswinkels werden vier Atome benötigt. Aufgrund von sterischer Abstoßung kann sich auch hier die Energie abhängig vom Winkel ändern. Bei einem Diederwinkel von 0° (Newman-Projektion: zwei Wasserstoffe direkt hintereinander) wird ein Maximum der Rotationsenergie erreicht: Die ekliptische Konformation. Der Diederwinkel rotiert von 0° bis 360° und beginnt wieder von vorne, verläuft also periodisch.

Dieses periodische Verhalten der Energie kann durch einen cos-Term modelliert werden:

$$E(\omega) = \frac{1}{2} V_n \cos(n\omega) \quad (5)$$

V_n ist die Barrierenhöhe und n die Periodizität. ($n=1$: 360° , $n=2$: 180° , $n=3$: 120°)

Betrachten wir nun beispielsweise die C-C Einfach - und die C=C Doppelbindung:

C-C hat eine 120° Periodizität, d.h. für eine 360° Rotation erhält man drei Minima:

$$\frac{1}{2} [1 - \cos(3\omega)]$$

C=C hat eine 180° Periodizität:

$$\frac{1}{2} [1 - \cos(2\omega)]$$

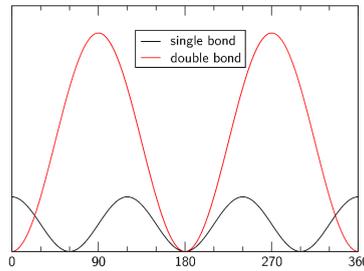


Abbildung 4: Periodizität einer C-C-Bindung (schwarz) und einer C=C-Bindung (rot).

1.2 Nicht-bindende Terme

1.2.1 Coulomb-Wechselwirkung

Das Coulomb-Potential beschreibt die Wechselwirkung zweier Ladungen über ein einfaches Potential. Durch die verschiedenen chemischen Bindungen erhalten Atome unterschiedliche positive oder negative Teilladungen. Diese Teilladungen wechselwirken im Vergleich zu den vorher beschriebenen Bindungstermen deutlich weitreichender, sind aber allgemein schwächer.

Die Coulomb Wechselwirkung besteht aus drei Termen, der Kern-Kern Repulsion:

$$\frac{1}{2} \sum_{ij} \frac{Z_i Z_j}{R_{ij}}, \quad (6)$$

der Kern-Elektron Anziehung:

$$-\sum_i \int \frac{Z_i \rho(r)}{|R_i - r|} dr \rightarrow -\sum_{ij} \frac{Z_i Q_j}{R_{ij}}, \quad (7)$$

wobei die Elektronendichte $\rho(r) \rightarrow \sum_j Q_j$ durch Punktladungen Q_j und die klassische (Hartree) Elektron-Elektron-Wechselwirkung durch die Coulomb-Wechselwirkung der Punktladungen

$$\frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r) \rho(r')}{|r - r'|} \rightarrow \frac{1}{2} \sum_{ij} \frac{Q_i Q_j}{R_{ij}} \quad (8)$$

genähert ist. Mit der Definition von atomaren Partilladungen $q_i = Q_i - Z_i$ lassen sich die drei Terme kompakt zusammenfassen:

$$\frac{1}{2} \sum_{ij} \frac{q_i q_j}{R_{ij}} \quad (9)$$

Als Parameter benötigt man daher atomaren Partilladungen, die sehr gut durch quantenmechanische Rechnungen erhalten werden können.

1.2.2 Van-der-Waals Wechselwirkung

Die Van-der-Waals Wechselwirkung besteht aus der Pauli-Repulsion und einer attraktiven Dispersionswechselwirkung. Durch temporär induzierte Dipole in der Elektronenwolke der Moleküle entsteht eine attraktive Wechselwirkung, die London-Dispersion genannt wird. Dieser Wechselwirkung steht die Pauli-Repulsion gegenüber, die sehr viel stärker als die induzierten Dipole ist, aber auch deutlich schneller kleine Werte annimmt. Die Van-der-Waals-Wechselwirkung lässt sich durch das Lennard-Jones Potential (Abb.5) beschreiben:

$$V(r) = 4\epsilon \left(\underbrace{\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12}}_{\text{Pauli-Repulsion}} - \underbrace{\left(\frac{\sigma}{r}\right)^6}_{\text{Dispersion}} \right) \quad (10)$$

Hierbei ist r der Abstand der Moleküle, entspricht der Tiefe des Potentials und σ ist ein Parameter, mit dem man auf den Gleichgewichtsabstand rückschließen kann (Proportionalitätsbeziehung: $r_0 = 2^{\frac{1}{6}}\sigma$).

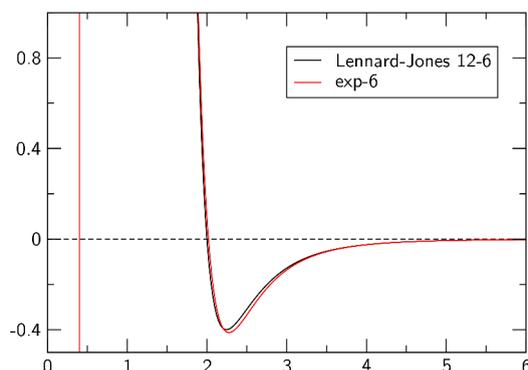


Abbildung 5: Das Lennard-Jones Potential mit $\epsilon = 0.4$ und $\sigma = 2$ im Vergleich mit einer exp-6 Funktion.

1.3 Gesamtenergie des Kraftfelds

Die Gesamtenergie eines typischen biomolekularen Kraftfeldes sieht also folgendermassen aus:

$$\begin{aligned}
 E = & \frac{1}{2} \sum_a k_a (r_a - r_a^0)^2 + \frac{1}{2} \sum_b k_b^\theta (\theta_b - \theta_b^0)^2 + \frac{1}{2} \sum_n V_n [1 - \cos(n\omega)] \\
 & + \sum_i^N \sum_{j=i+1}^N \left[4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right] \quad (11)
 \end{aligned}$$

2 Geometrieoptimierung am Beispiel klassischer Mechanik

Die Strukturen, welche in Simulationen untersucht werden sollen, sind meist künstlichen Ursprungs. Entweder sie sind komplett mit Hilfe eines Computerprogramms "gebaut" (zusammengeklickt) oder aber sie basieren auf Röntgenstrukturen, an welche die Wasserstoffe nach einfachsten Methoden angebracht werden. Diese Strukturen sollten daher energetisch minimiert werden um der Gleichgewichtsstruktur möglichst nahe zu kommen. Dazu muss die Geometrie gefunden werden, bei der die Energie des Moleküls möglichst minimal ist.

Mathematisch gesehen kann man Minima durch das Bilden der Ableitung finden. Folgt man der Ableitung schrittweise immer weiter "bergab", so wird man irgendwann in einem (lokalen) Minimum landen (Abb. 6(a)).

- Problem 1: Man kann auch ein Maximum oder einen Sattelpunkt gefunden haben. Dies stellt man fest, indem man die zweite Ableitung bildet. Ist diese positiv, so hat man ein Minimum, negativ, so hat man ein Maximum und ist sie ebenfalls Null hat man einen Sattelpunkt gefunden.
- Problem 2: Man findet nicht notwendigerweise die energetisch tiefste Struktur. Dazu benötigt man dann andere Methoden, z.B die Molekulardynamik (MD) Simulationen. Oft benötigt man also etwas chemische Intuition, und man muss mehrere (Start-)Konformationen ausprobieren.

Abb. 6(a) zeigt das Verfahren in einem 1-dimensionalen Potential, welches z.B. für ein zweiatomiges Molekül denkbar wäre. Die Energie hängt hier nur von einer Variablen ab, der Bindungslänge (x).

$$E(x) = \frac{1}{2} k(x - x_0)^2 \quad (12)$$

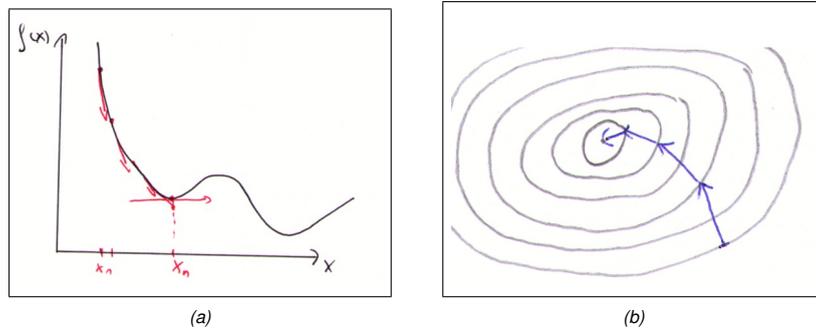


Abbildung 6: a) Potentialhyperfläche für diatomares Molekül, b) Steepest Descent Minimierung.

Ist hier x von x_0 (Gleichgewichtsabstand der Atome) verschieden, so ergibt sich eine positive totale Energie des Kraftfelds. Daraus kann nun mit Hilfe der Ableitung die Kraft als negativer Gradient ($g(x)$) berechnet werden:

$$F(x) = -g(x) = \frac{\partial E(x)}{\partial x} = -k(x - x_0) \quad (13)$$

Der Gradient zeigt immer in Richtung der grössten Steigung. Um nun zum Minimum zu gelangen geht man einen Schritt mit bestimmter Weite h in die Richtung der Kraft. Dies wird iteriert, bis man das Minimum erreicht hat.

Allerdings ist dieses Verfahren ineffizient z.B. in engen Tälern (Abb. 7), weshalb meist effizientere Verfahren als dieses sogenannte Steepest Descent (SD) Verfahren verwendet werden.

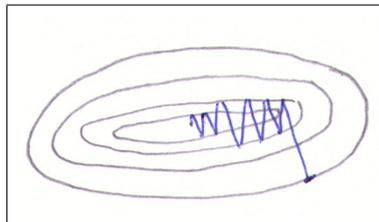


Abbildung 7: Steepest descent Minimierung.

Bei der Energie-Minimierung müssen wir also die Energie berechnen und dann die Ableitungen nach den Atomkoordinaten. Dies ergibt die Kräfte (siehe Formel 13). Die Kräfte können wir dann nutzen, um das Minimum zu finden.

3 Molekulardynamik (MD) Simulationen

Dynamik heisst, dass sich die Orte und Impulse $\{\vec{r}_i(t_k), \vec{p}_i(t_k)\}$ zeitlich ändern werden, was man als Trajektorie im Konfigurationsraum bezeichnet. Wenn nun verschiedene Konformationen durchlaufen werden, sind mit den unterschiedlichen Geometrien unterschiedliche potentielle Energien verbunden, das Molekül hat also nicht eine feste potentielle Energie (wie etwa H_2O bei $T=0K$).

3.1 Numerische Integration von Bewegungsgleichungen

Wie oben besprochen, interessieren wir uns für die zeitliche Entwicklung unseres Systems, also für die Orte $x(t)$ und Geschwindigkeiten $v(t)$ zu allen Zeiten t . Für komplexe Systeme können wir nicht mehr, wie z.B. beim harmonischen Oszillator, die Orte und Impulse zu allen Zeiten in geschlossener Form als Funktion der Zeit angeben und müssen sie daher zeitlich entwickeln.

$$x(t + \Delta t) = x(t) + \dot{x}(t)\Delta t = x(t) + v(t)\Delta t \quad (14)$$

$$v(t + \Delta t) = v(t) + \dot{v}(t)\Delta t = v(t) + a(t)\Delta t \quad (15)$$

Die Beschleunigung $a(t)$ jedes Atoms wird hierbei nach Newton aus der Kraftfeld-Gesamtenergie (Gl. 11) der aktuellen Konformation erhalten.

$$a(t) = \frac{F(t)}{m} = -\frac{\partial E(R)}{\partial x(t)} \quad (16)$$

Mit Startgeschwindigkeiten $v(t_0)$ und Startkoordinaten $x(t_0)$ können wir somit Schritt für Schritt eine Trajektorie erstellen. In der Praxis werden allerdings besser Algorithmen eingesetzt, bei denen der Integrationsfehler kleiner ist.

3.2 Die Verlet Methode

Eine häufig verwendete Methode ist die sogenannte Verlet Methode. Hier wird in der Herleitung eine Taylorentwicklung in 'positive' und eine in 'negative' Zeitrichtung durchgeführt:

$$x(t_0 + \Delta t) = x_0 + \dot{x}(t_0)\Delta t + \frac{1}{2}\ddot{x}(t_0)\Delta t^2 \quad (17)$$

$$x(t_0 - \Delta t) = x_0 - \dot{x}(t_0)\Delta t + \frac{1}{2}\ddot{x}(t_0)\Delta t^2 \quad (18)$$

und dann werden die beiden Gleichungen addiert:

$$x(t_0 + \Delta t) = 2 \cdot x_0 - x(t_0 - \Delta t) + \ddot{x}(t_0)\Delta t^2 \quad (19)$$

$$a(t_0) = \ddot{x}(t_0) = -\frac{1}{m} \frac{\partial V}{\partial x} \quad (20)$$

Diese Methode ist einfach und auch relativ stabil, deshalb wird sie häufig eingesetzt. Sie hat jedoch einen kleinen Haken: Sie benötigt die Orte x_0 und Beschleunigungen $a(t_0)$, aber auch die Orte $x(t_0 - \Delta t)$! Das scheint zunächst ein Problem zu sein, denn wenn wir die MD starten kennen wir nur $x(t_0)$, $v(t_0)$ und $a(t_0)$ aber nicht $x(t_0 - \Delta t)$. Wenn man jedoch Geschwindigkeiten kennt,

$$\dot{x}(t_0) = v(t_0) = \frac{x(t_0 + \Delta t) - x(t_0 - \Delta t)}{2 \cdot \Delta t} \quad (21)$$

dann kann man durch diese auf die $x(t_0 - \Delta t)$ schließen.

Es gibt auch noch weitere Integrationsmethoden (Leap-Frog, Runge-Kutta...) die hier nicht näher besprochen werden sollen.

3.2.1 Thermostat

Wir starten eine Simulation beispielsweise mit dem Verlet Algorithmus, indem wir Anfangskoordinaten und Anfangsgeschwindigkeiten spezifizieren. Üblicherweise erhält man die Koordinaten aus einer experimentellen Kristallstruktur (PDB) und verwendet zufällige Geschwindigkeiten die einer Maxwell–Boltzmann-Verteilung entsprechen als Anfangsgeschwindigkeiten (v_i).

Diese v_i führen zu einer Temperatur

$$E_{kin} = \sum_i \frac{1}{2} m_i v_i^2 = \frac{3}{2} NkT \quad (22)$$

Im Laufe der Simulation wird die Temperatur des Systems von der gewünschten Temperatur (T_{ref}) abweichen, da sich die Geschwindigkeiten der Atome ändern.

$$T(t) = \frac{2}{3} \frac{E_{kin}(t)}{Nk} \neq T_{ref} \quad (23)$$

Die einfachste Möglichkeit Einfluss auf die Temperatur zu nehmen ist in diesem Fall, die Geschwindigkeiten der Atome mit einem Faktor λ zu skalieren:

$$\lambda = \sqrt{\frac{T_{target}}{T}} \quad (24)$$

Dies ist eine sehr grobe Methode um die Temperatur zu kontrollieren. Man beschreibt die zeitliche Entwicklung des Systems mit dem Verlet Algorithmus und 'haut' von Zeit zu Zeit mal drauf, um es wieder auf die richtige Temperatur zu bringen. Dies kann zum Einen zu Artefakten führen. Viel wichtiger ist jedoch, dass nicht garantiert ist, dass die Geschwindigkeitsverteilung der Maxwellverteilung genügt.

Der **Berendsen Thermostat** vermeidet solch drastische Eingriffe in die Dynamik.

Hier wird gefordert, dass die Änderung der Temperatur proportional zur Größe der Temperaturdifferenz zwischen zwei Zeitschritten $\Delta t = t_{i+1} - t_i$ geschieht:

$$\frac{\Delta T}{\Delta t} = \frac{1}{\tau} (T_{ref} - T), \quad (25)$$

Die Proportionalitätskonstante hierfür ist die Relaxationszeit τ .

Die Temperatur wird also geändert:

$$\Delta T = \frac{\Delta t}{\tau} (T_{ref} - T). \quad (26)$$

Indem die Geschwindigkeiten wie folgt skaliert werden:

$$\Delta T = T_{ref} - T = (\lambda^2 - 1) T, \quad (27)$$

Die beschriebenen Thermostate kontrollieren in sehr einfacher Weise die Temperatur. Elaboriertere Methoden sind die **Anderson** und **Nose** Thermostate. Diese können hier nicht im Detail diskutiert werden. Es soll jedoch angemerkt werden, dass der Nose Thermostat ein kanonisches Ensemble erzeugt und damit dem Experiment am nächsten kommt. Daher wird bei den meisten Anwendungen dieser Thermostat verwendet.

4 Durchführung

In diesem Versuch wird Hyperchem 8 verwendet. Es folgen ein paar allgemeine Hinweise zur Bedienung:

- Mit den Buttons links oben kann man zwischen Zeichenmodus und Auswahlmodus wechseln, sowie die Ansicht rotieren, verschieben und zoomen.
- Im Zeichenmodus kann man mit der linken Maustaste das aktuell ausgewählte Element zeichnen und mit der rechten Maustaste Atome löschen.
- Für den Auswahlmodus kann man unter *Select* einstellen ob die Auswahl einzelne Atome oder ganze Moleküle betreffen soll. Mit Linksklick wählt man aus, mit Rechtsklick kann man die Auswahl aufheben. Klicken auf den Hintergrund betrifft dabei alle Atome. Wenn *Select* → *Multiple Selection* aktiv ist, wählt man mit Linksklick nicht ein einzelnes Atom bzw. Molekül aus, sondern erweitert die aktuelle Auswahl.
- Unter *Display* → *Rendering* können Sie die Darstellung des Moleküls ändern.

4.1 Konformationen von Glycin-Peptiden

Bei kleinen Molekülen hat man oft eine grobe Vorstellung von Anfangs-, Übergangs- und Endzustand und muss diese dann nur noch mit den gerade gezeigt Mitteln genauer bestimmen. Wenn man bei komplexeren Molekülen allerdings nach weiteren Minima sucht und nicht weiß wie diese aussehen oder wie man diese erreicht, dann bietet sich eine dynamische Simulation des Moleküls an.

Im Folgenden werden wir, ausgehend von einer optimierten Startstruktur, Konformationen von Mono- sowie Decaglycin mittels einer Molekulardynamischen Simulation (MD) suchen. Für größere Moleküle verwendet man üblicherweise klassische Kraftfelder.

4.1.1 Monoglycin

Wählen Sie zunächst unter *Setup* → *Molecular Mechanics* das *AMBER* Kraftfeld aus. Ein Monoglycinmolekül mit geschützten Endgruppen bauen Sie unter *Database* → *Amino Acids*. Stellen Sie als Konformation *Alpha helix* ein und bauen Sie die Sequenz Ace-Gly-Nme.

► Messen Sie die Torsionswinkel um die $C_{\alpha} - C$ und um die $N - C_{\alpha}$ Bindung (siehe Abb. 8).

Diese Winkel nennt man Psi (ψ) und Phi (ϕ). Wählen Sie in einer Reihe die vier Atome des ϕ -Backbonewinkels aus und speichern Sie diese unter dem Namen "phi" bei *Select* → *Name Selection* → *Other*. Wiederholen sie dies analog für ψ .

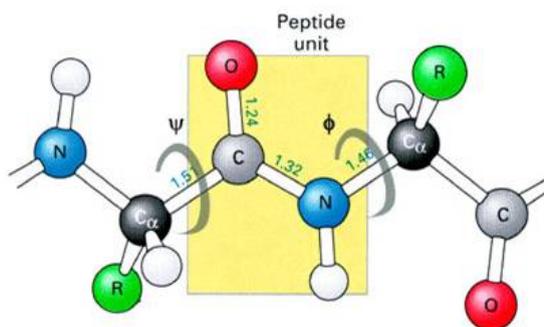


Abbildung 8: Definition des ψ - und ϕ -Winkels.

Mit Hilfe dieser Winkel ist es möglich die Strukturen von Peptiden oder Proteinen zu charakterisieren. Am bekanntesten sind wohl die beiden Konformationen α -Helix und β -Faltblatt.

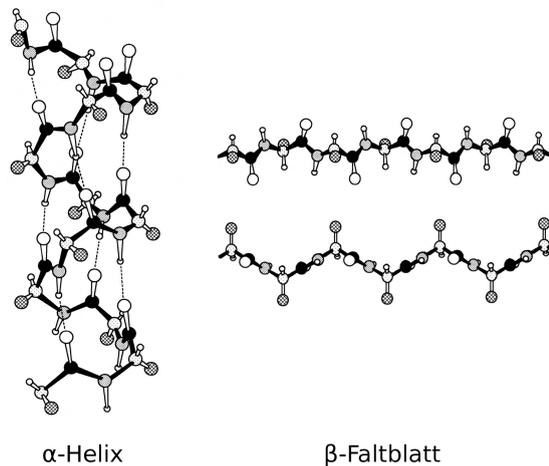


Abbildung 9: Skizzen der beiden wichtigsten Sekundärstrukturen in Proteinen: α -Helix und β -Faltblatt.

Bestimmte Wertebereiche der jeweiligen Winkel gehören zu den Konformationen:

- α -Helix: $\psi \approx -47^\circ$, $\varphi \approx -57^\circ$
- β -Faltblatt: $\psi \approx \pm 180^\circ$, $\varphi \approx -170^\circ$

Optimieren Sie nun die Struktur mittels des *Steepest Descent* Verfahren. Stellen Sie 1000 Optimierungsschritte bei *maximum cycles* ein.

- ▶ Was beobachten Sie bezüglich der Konvergenz der Geometrieoptimierung?
- ▶ Wählen Sie nach Abschluss der 1000 Optimierungsschritte *Polak-Ribiere (Conjugate gradient)* als Optimierungsverfahren aus und vollenden Sie die Geometrieoptimierung.
- ▶ Notieren Sie sich die Energie der optimierten Struktur.
- ▶ Wie sind die optimierten Werte für ψ und φ ?

Die dynamische Simulation starten Sie unter *Compute* \rightarrow *Langevin Dynamics*. Stellen sie als *Run time* "1000 ps" und als *Data collection period* "1000" ein. Erhöhen Sie die Kopplung an den Thermostaten, indem Sie die *Bath relaxation time* auf 0.1 ps setzen. H_2O wird als implizites Lösemittel simuliert, indem wir den *Friction coefficient* auf 20 ps^{-1} setzen. Um die einzelnen Konformationen während der MD zu speichern, wählen Sie bitte unter *Snapshots* als Speicherort ihren Gruppenordner aus. Unter *Averages* können Sie φ und ψ während der Simulation verfolgen. Wählen Sie dazu "phi" und "psi" aus und bringen Sie diese durch Klicken auf *Add* nach **ganz rechts**. Starten Sie die Simulation nun durch Klicken auf *Proceed*.

Hilfreiche Befehle zum Verfolgen der MD:

- Leertaste zentriert das Molekül auf dem Bildschirm
- Mit dem Magnify/Shrink-Tool links oben kann man bei gedrückter Maustaste rein- und raus-zoomen.
- Über den Button "Rescale" lässt sich der Graph von φ und ψ neu skalieren.

Anhand von φ und ψ können Sie gut beobachten ob sich eine neue Konformation eingestellt hat (Beachte: $-180^\circ = 180^\circ$). Leider lässt sich der Graph nicht direkt speichern.

- ▶ Erstellen Sie deshalb einen Screenshot, wenn die Simulation abgeschlossen ist und schneiden Sie den Graphen mit einem Grafikprogramm für die spätere Auswertung aus.
- ▶ Machen Sie zusätzlich einen Screenshot der erhaltenen Endstruktur.

In den 1000ps sollten Sie mindestens eine und mit etwas Glück zwei Konformationen gefunden haben, bei denen sich ψ und φ von ihren ursprünglichen Werten unterscheiden. Diese neuen Konformationen wollen wir

jetzt in einer Ramachandran-Plot-Analyse genauer untersuchen. Gehen Sie dazu in ihren Gruppenordner, in dem die Simulation abgespeichert wurde. Hier finden Sie eine csv-Datei, die die Entwicklung der ψ - φ -Winkel über die 1000ps-Simulation enthält.

- ▶ Importieren Sie diese Datei in eine Tabellenkalkulation-Software Ihrer Wahl (*Origin, Excel*).
- ▶ Erstellen Sie einen Ramachandran-Plot (Auftragung von ψ (y) gegen φ (x)). Achten Sie bitte darauf, dass die Skalierung bei beiden Winkeln von -180° bis 180° reicht. Speichern Sie den Ramachandran-Plot für die spätere Auswertung ab.

4.1.2 Decaglycin

Wiederholen Sie analog zur oberen Durchführung die Simulation und Analyse für das Decaglycin-Molekül (Ace-(Gly)₁₀-Nme). Stellen Sie sich darauf ein, dass die Molekulardynamik-Simulation im Verhältnis zum Monoglycin mehr Zeit in Anspruch nehmen wird (~10min.).

- ▶ Was beobachten Sie bei der Geometrieoptimierung im Vergleich zu Monoglycin?
- ▶ Was beobachten Sie im φ - ψ -Graph der Molekulardynamik-Simulation im Verhältnis zu Monoglycin?

5 Auswertung

- ▶ Woran kann es liegen, dass die Backbone-Winkel nach Optimieren der Monoglycin-Alpha-Helix keiner gängigen Sekundärstruktur entsprechen? Gehen Sie dabei auf Faktoren wie die Länge der Sequenz oder die Umgebung in der wir simuliert haben ein.
- ▶ Welche Funktion/Einfluss hat der Einbau von Glycin in Protein-Sekundärstrukturelemente?
- ▶ Welche Sekundärstrukturen sind im Ramachandran-Plot für die Monoglycin-Simulation zu erkennen?
- ▶ Die Backbone-Winkel beschreiben die helikale Struktur des Peptids. Durch Spiegelung lässt sich eine links-gängige in eine rechtsgängige Helix überführen (siehe: helikale Chiralität). Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass Glycin achiral ist können Sie Aussagen über die Energie von Bild und Spiegelbild der minimierten Startstruktur machen, auch wenn Sie das Spiegelbild in Ihrer Simulation nicht beobachtet haben...
- ▶ Welche Sekundärstrukturen sind im Ramachandran-Plot für die Decaglycin-Simulation zu erkennen?
- ▶ Vergleichen Sie die erhaltene Struktur des Decaglycin-Peptids mit den Literaturwerten (1). Warum kommt es zu einer Abweichung vom Literaturwert? Gehen Sie hierbei auf die Simulationsdauer ein.
- ▶ Unter welchen Bedingungen hätten Sie die MD durchführen können, um die Barrieren zwischen den Minima schneller zu überwinden?

6 Themen zur Vorbereitung/Wichtige Punkte fürs Protokoll

Alle mit ▶ gekennzeichneten Fragen und Anweisungen sind wichtig für die Vollständigkeit des Protokolls! Folgende Fragen sollten im Kolloq beantwortet werden können und entsprechend auch im Protokoll auftauchen. Es ist dabei nicht erforderlich die Fragen explizit (Frage - Antwort) zu beantworten, es soll lediglich eine Hilfestellung und "Checkliste" für ein vollständiges Protokoll gegeben werden!

- Was ist ein Kraftfeld?
- Auf welchen Parametern basiert es und wie sind diese definiert?
- Vor- und Nachteile von Kraftfeldmethoden.
- Wodurch zeichnen sich Minima und Übergangszustände der Potentialhyperfläche aus?
- Wie funktioniert die Geometrieoptimierung?

- Wie wird eine dynamische Simulation durchgeführt und wie lässt sie sich steuern (z.B. die Temperatur)?
- Welche Sekundärstrukturen unterscheidet man in Peptiden/Proteinen und wie kann man diese anhand der Backbone-Winkel unterscheiden?
- Was ist ein Ramachandran-Plot und zu was dient er?

7 Zusätzliche Literatur zum tieferen Einstieg

- 1 Sergei Bykov and Sanford Asher, Raman Studies of Solution Polyglycine Conformations, *The Journal of Physical Chemistry B* **2010** 114 (19), 6636-6641
- 2 Skript zur Vorlesung *Biomolecular Modeling*, http://www.ipc.kit.edu/tcb/28_216.php
- 3 Leach, A.R. *Molecular Modeling - Principles and Applications*; Prentice Hall, **2001**
- 4 Jensen, F. *Introduction to Computational Chemistry*; Wiley, **1999**.
- 5 Cramer, C. J. *Essentials of Computational Chemistry*; Wiley, **2002**.