

Monte Carlo simulering – fra proteiner til cement

Vi har kastet kittel og murerarbejdstøj i ringen og vil i stor magelighed studere proteiner, cement, DNA og havvand. Kan biomolekyler virkelig beskrives med simple, hårde kugler? Og hvad siger vores kollegaer til sådanne fantasifulde tilnærmelser? Læs mere her, hvor der gives en introduktion til molekylær modellering

Af Mikael Lund og Bo Jönsson - Teoretisk Kemi, Lunds Universitet

Hvad har proteiner og DNA tilfælles med havvand og cement? Ikke meget, vil nogen måske mene, og der er da ved første øjekast heller ikke mange ligheder. Men ser man lidt nærmere efter, viser det sig, at de deler den samme egenskab, nemlig at de er stærkt ioniske. Og netop ladninger i form af frie ioner og molekyler er uhyre vigtige for de fysiske og kemiske egenskaber. Et synligt eksempel er, når mælk og eddike blandes: pH-sænkningen foranlediger protonering af proteinet kasein, så det går fra at være negativt ladet til omtrent neutralt. Der er nu ikke længere nogen frastødende kraft mellem kaseinmolekylerne, og de udfælder derfor.

Den klassiske teori for ioniske opløsninger blev grundlagt i starten af 1900-tallet. Den nok mest berømte er Debye og Hückels vellykkede teori til beregning af aktivitetskoefficienter. Modellen de anvendte, behandler solventet som strukturløst (et dielektrisk kontinuum), mens ioner antages at være ladede, hårde kugler. Parvekselvirkningsenergien mellem to kugler kan derfor beskrives med Coulombs lov:

$$E_{12} \propto z_1 z_2 / \epsilon r_{12}$$

hvor z er ladningstillene (valens), r den indbyrdes afstand og ϵ er solventets dielektricitetskonstant. For at beskrive systemets termodynamiske egenskaber skal man summere energierne for alle tænkbare molekylorienteringer og -positioner (mikrotilstande), hvorved den eftertragtede tilstandssum kan skrives som:

$$Z = \sum e^{-E_{tot}/kT}$$

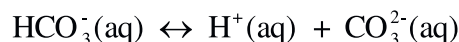
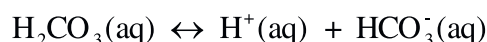
Det bliver hurtigt et ubehageligt regnestykke, og for at løse problemet måtte Debye og Hückel ty til både linearisering og middefeltsteori (Poisson-Boltzmann). Disse tilnærmelser har betydning for opløsninger med multivalent ioner og/eller høj ionstyrke, og Debye-Hückel-teorien er da også kendt for at fejle for sådanne systemer.

I dag er sagen en ganske anden. Tilstandssummen - som er alfa og omega i statistisk mekanik - kan opnås ved at lade en eller mange computere udregne energierne for de utallige partikelkombinationer. For at beskrive en 0.1 M NaCl-opløsning kan man f.eks. tage 200 kugler - halvdelen positivt ladede, resten negative - og lægge dem i en virtuel, kubisk kasse med en sidelængde på 119 Ångstrøm (regn selv efter!) og dielektricitetskonstanten 80, svarende til vand. I en Monte Carlo (MC)-simulering kan mikrotilstandene herefter udforskes ved at udføre *tilfældige* kugleflytninger. Systemets energi udregnes før og efter hver flytning, og forskellen afgør om gerningen skal godkendes

eller forkastes. Udvalgsmetoden er snedigt opbygget, så de konfigurationer, der bidrager mest til tilstandssummen (lavest energi), besøges oftere end dem, der giver et ubetydeligt bidrag (høj energi). Efter en stund med sådanne røkeringer opnår systemet termodynamisk ligevægt, og man kan nu - under stadig flytning - påbegynde undersøgelser af både mikro- og makroskopiske egenskaber. Slutresultatet er *eksakt* for den opsatte model, og simuleringen betegnes populært som et »computer-eksperiment«.

Havvand og drivhuseffekten

Lad os tage opløsningen af kuldioxid i havvand som et eksempel,



Med tilhørende dissociationskonstanter,

$$K_1 = \frac{c_{\text{H}^+} c_{\text{HCO}_3^-}}{c_{\text{H}_2\text{CO}_3}} \cdot \frac{\gamma_{\text{H}^+} \gamma_{\text{HCO}_3^-}}{\gamma_{\text{H}_2\text{CO}_3}}$$

$$K_2 = \frac{c_{\text{H}^+} c_{\text{CO}_3^{2-}}}{c_{\text{HCO}_3^-}} \cdot \frac{\gamma_{\text{H}^+} \gamma_{\text{CO}_3^{2-}}}{\gamma_{\text{HCO}_3^-}}$$

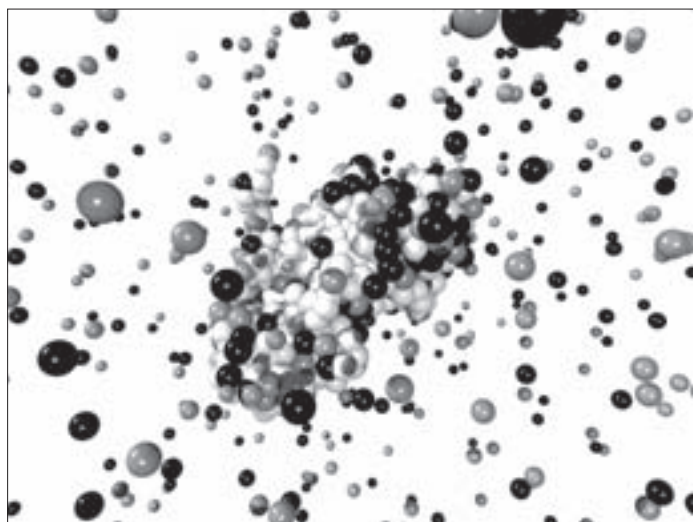
I fortyndede opløsninger, kan alle aktivitetskoefficienter, γ sættes til 1, men i havvand er ionstyrken tæt på 1 M og de ovenstående γ -brøker er hhv. 0,3 og 0,04. Disse afvigelser har naturligvis betydning for kuldioxids opløselighed i verdenshavene, og det er derfor vigtigt, at klimamodeller inkluderer præcise aktivitetskoefficienter. Sådanne målinger er dog ofte problematiske (T. Pedersen, Dansk Kemi 2000, nr. 9 og 10), og MC-simuleringer kan her hjælpe til [1]. Tabel 1 viser hhv. målte og beregnede middelaktivitetskoefficienter i kunstigt havvand¹.

	γ_{\pm} (Målt)	γ_{\pm} (Simuleret)
Na ₂ SO ₄	0,374±0,016	0,374
K ₂ SO ₄	0,352±0,018	0,360
KCl	0,645±0,008	0,645
CaSO ₄	0,136	0,152

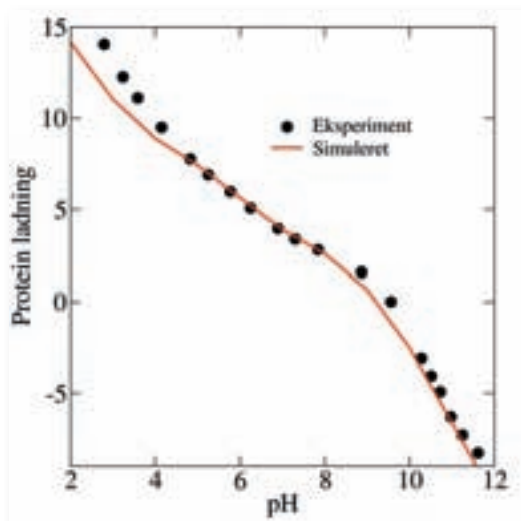
Tabel 1. Middelaktivitetskoefficienter for en række salte i havvand. Salinitet: 35 promille.

Proteiner som kugler:

Det er nu skitseret, hvordan ioniske opløsninger kan beskrives med kugler i en kasse, men der er ingen grund til at stoppe der. Kuglesystemet kan let bruges til at opbygge større molekyler som proteiner, DNA, miceller og polymerer. Figur 1 viser et billede fra en simulering af et protein i en vandig saltopløsning, hvor målet var at bestemme støkiometriske pK_a -værdier for titrerbare residier [2]. Som det ses i figur 2, er titrerkurverne ofte i særdeles god overensstemmelse med det eksperimentelt bestemte resultat.



Figur 1. Monte Carlo-simulering af et protein i en saltopløsning, hvor alle atomer og ioner er beskrevet med kugler.



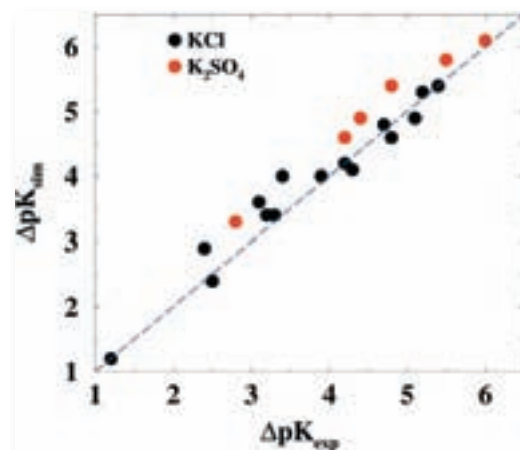
Figur 2. Titreringskurve for ribonuclease A.

Der findes mange calciumbindende proteiner i biologiske systemer - et af dem er calbindin D_{9k} , der binder to calciumioner. Bindingsprocessen er grundigt studeret med forskellige spektroskopiske metoder og ved at variere saltkoncentration, salttype og endda ved at mutere aminosyrer i proteinet. Man kan - næsten uden sved på panden - foretage tilsvarende eksperimenter på en computer, og som det fremgår af figur 3 er overensstemmelsen mellem teori og praksis særdeles god. Bemærk at systemet udelukkende er opbygget af små kugler.

Ion-ionkorrelation

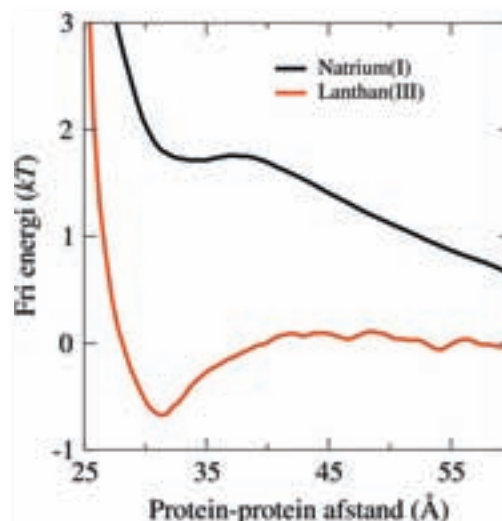
Det er også muligt at studere to eller flere proteinmolekyler, hvorved opløsningens stabilitet kan følges under forskellige forhold som pH, saltkoncentration og valens [3]. Det har betydning

Figur 3. Målte og simulerede skift i Ca^{2+} -bindingskonstanter til calbindin D_{9k} ved forskellige pH, saltkoncentrationer og proteinmutteringer.

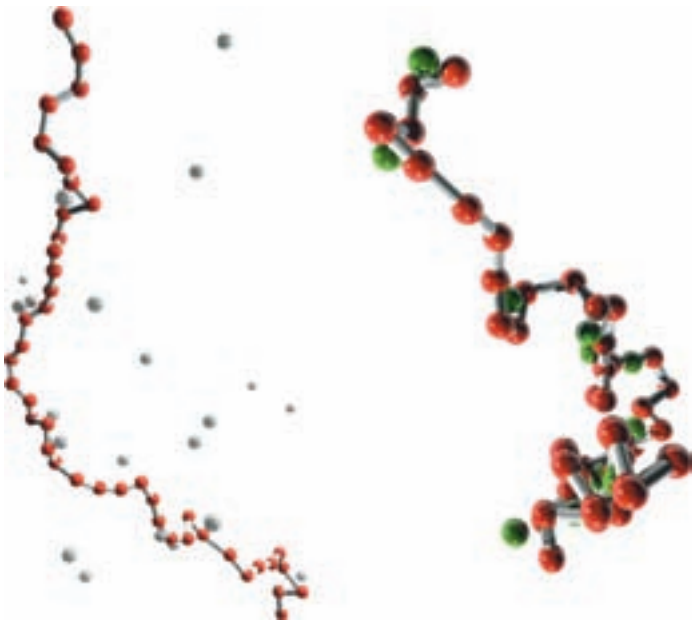


for protein-krystallografer, som ofte prøver sig frem til de forhold, der giver fine krystaller. Følgende eksempel illustrerer en interessant mekanisme, der kan have stor indflydelse på protein-protein-vekselvirkninger.

Proteinet calbindin har ved pH 7 en ladning på -7, og den vandige opløsning er derfor ganske stabil, da molekylerne frastøder hinanden. Tilsættes NaCl, vil frastødningen gradvist mindskes, men man får *ikke* et fri energi minimum, der forårsager udfældning. Tilsættes derimod meget små mængder $LaCl_3$, udfælder proteinet straks. Det skyldes *ionkorrelationer*, som ikke kan studeres med Poisson-Boltzmann-metoder, men kræver en eksplicit beskrivelse af frie ioner. Meget fundamentalt, mindskes energien i et elektroneutralt system (proteiner og modioner) *altid*, når ladningerne flyttes tættere sammen; elektrostatikken bidrager med en tiltrækkende kraft mellem molekylerne - til trods for at de har samme ladning. Det strider måske mod vanlig intuition, men er helt analogt med en saltkrystal, hvor de skiftende kat- og anioner sørger for gitterenergi. For at neutralisere to calbindinmolekyler kræves enten 14 natrium(I)-ioner eller ca. 5 lanthan(III)-ioner. Disse skal inddrages fra opløsningen, hvilket - da antallet af frihedsgrader mindskes - koster *entropi*, og de giver derfor et frastødende bidrag til protein-protein-vekselvirkningen. For Na^+ er dette bidrag større end den elektriske tiltrækning, og proteinerne frastøder hinanden. For La^{3+} kræves der tre gange færre partikler, og prisen (entropi) er derfor mindre. Da trivalente ioner samtidig giver anledning til stærke parvekselvirkninger, dominerer den elektrostatiske energi, og proteinerne udfælder (figur 4). ▶



Figur 4. Ændring i fri energi som funktion af afstand mellem to calbindinmolekyler ved pH 7 og med hhv. mono- og trivalente modioner.



Figur 5. Simuleret DNA-streng med hhv. monovalente (venstre) og trivalente (højre) modioner.

Cement og DNA:

Ionkorrelationer er vigtige for systemer med høj ladning og di- eller trivalente ioner. Til trods for deres umiddelbare forskelle er både DNA og cement gode eksempler på sådanne systemer. DNA er en negativ ladet polymer, og ifølge gængse teorier burde det derfor være stift som en pind. Og det er da også, hvad man observerer, hvis der kun er Na^+ til stede. I en biologisk celle findes der dog både tri- og tetravalente kationer (spermidin og spermin), der medfører, at DNA-strengen krøller sig sammen som vist i figur 5. Det er således ionkorrelationer, der gør det muligt at pakke de meget lange DNA-strengene i cellen [4].

Cement har været kendt siden antikken, og bygninger som Pantheon og Pont du Gare fryder den dag i dag vores øjne. Den antikke cement adskiller sig ikke nævneværdigt fra moderne Portlandcement, der har været i brug siden 1800-tallet. Hovedbestanddelen er tricalciumsilicat, som kan opløses i vand under dannelse af en stærk basisk opløsning. Efter en stund er ionkoncentrationen øget tilstrækkelig til at udfælde et andet mineral, calciumsilicathydrat (C-S-H). Udfældningen sker i form af nanostore lameller, der under basiske forhold har en meget høj ladning pga. titrerende silanolgrupper. Da der samtidig forefindes calciumioner, leder ionkorrelationer til en tiltrækkende vek-

selvirkning mellem de højt ladede C-S-H-lameller [5]. At simuleringerne virkelig formår at beskrive cementkohesionen, bevises i figur 6.

Tak til Thorvald Pedersen for venlig opfordring til dette indlæg - og for i første omgang at igangsætte samarbejdet på tværs af sundet.

E-mail-adresser

Mikael Lund: mlund@mac.com

Bo Jönsson: bo.jonsson@teokem.lu.se

Fodnote

¹⁾ En vandig opløsning indeholdende de vigtigste komponenter af havvand (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- og SO_4^{2-}). Aktivitetskoefficienter for andre species antages udelukkende at afhænge af disse »hovedingredienser«.

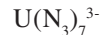
Referencer:

1. Lund, M., Jönsson B. og Pedersen, T., *Marine Chemistry* 80, 95-101 (2003).
2. Lund, M. og Jönsson, B. *Biochemistry* 44, 5722-5727 (2005).
3. Lund, M. og Jönsson, B. *Biophysical Journal* 85, 2940-2947 (2003).
4. Khan, M. O., Melkinov, S. M., Jönsson, B. *Macromolecules* 32, 8836-8840 (1999).
5. Jönsson, B., Wennerström, H., Nonat, A., Cabane, B. *Langmuir* 20, 6702-6709 (2004)

Nyt om...

...uran

Margaret-Jane Crawford og medarbejdere ved universitetet i München har fremstillet et ammoniumsalt af uranpolyazid



Crawford brugte propannitril



som opløsningsmiddel

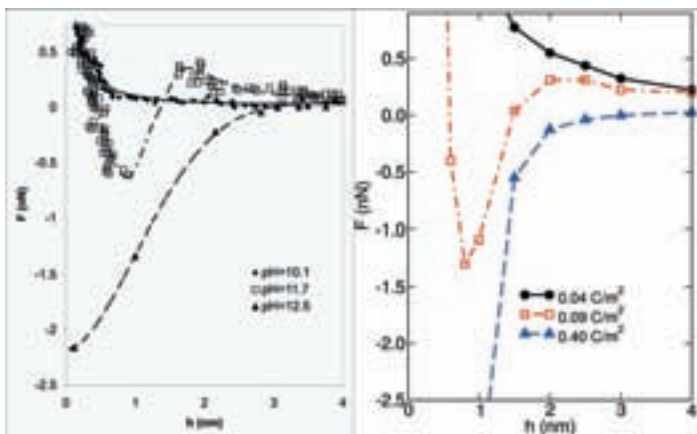
Gruppen har senere fremstillet analoge heptaazidforbindelser af molybden og wolfram.

Fremstilling af disse tungmetallpolyazider bliver aldrig brugt til kemiske småforsøg, det er alt for farligt: Opvarmes et af disse stoffer til stuetemperatur, dekomponerer det under eksplosion. Henlægges det i atmosfærisk luft i laboratoriet, bryder det i brand.

Bos

Litteratur:

S.K. RITTER 2005: New Wrinkles in Uranium Chemistry. Synthesis of novel uranium-nitrogen compounds. *Chemical & Engineering News*. November 28: 31



Figur 6. Målt (venstre) og simuleret (højre) kraft mellem cementpartikler ved forskellige pH.

Få Dansk Kemi til tiden

Undgå afbrydelse i leveringen af Dansk Kemi ved at meddele din nye adresse til TechMedia:

Mariann Hulkvist - tlf. 43 24 26 41

eller pr. e-mail: mh@techmedia.dk

Mogens Olsen - tlf. 43 24 26 91

eller pr. e-mail: mo@techmedia.dk