

1 Einleitung

Biologische Fragestellungen erleben in der Physik seit etwa 10 Jahren einen wahren Boom. Dieser wird keinesfalls nur von anwendungsorientierten, industriellen Interessen getragen, sondern betrifft auch in einem solchen Ausmaße die Grundlagenforschung, daß das gerade begonnene Jahrhundert immer öfter als das der Biowissenschaften bezeichnet wird. Spektakuläre Großprojekte wie das Human Genome Project trugen und tragen einen Teil dieser wissenschaftlichen Aufbruchstimmung auch in die Öffentlichkeit, mit all ihren gesellschaftlichen Chancen, aber auch ihren Bedenken [36, 65].

Auf molekularbiologischer Ebene entstehen einerseits immer präzisere Bilder des Zellstoffwechsels und seiner Störungen mit einer Unzahl an Einzelinformationen. Andererseits scheinen trotz vieler beachtenswerter Ergebnisse, nicht zuletzt auch in der Medizin, die fundamentalen Prinzipien des Lebens (sofern es sie denn gibt), die Reduzierung auf ein paar wenige Gesetze, noch nicht entdeckt zu sein. Man mag hier Analogien ziehen zu der verwirrenden Vielfalt elektrischer Erscheinungen, bevor Lichtenberg in Göttingen entdeckte, daß es nur zwei Arten von Ladungen gibt. Obwohl der Weg zu den Maxwell-Gleichungen noch sehr weit war, war diese Erkenntnis ein äußerst wichtiger Schritt. Angesichts der ungleich höheren Komplexität physikalischer und chemischer Vorgänge in lebenden Zellen erscheint das Entdecken fundamentaler Prinzipien des Lebens geradezu utopisch zu sein. Führt man sich jedoch die Erfolge der Maxwell-Gleichungen gerade auch in technologischer Hinsicht vor Augen (wo wären wir heute ohne Elektrizität/Elektronik?), erkennt man das ungeheure Potential biologischer Forschung für zukünftige Generationen.

Es ist nicht allein der langfristige Wunsch nach so Grundlegendem, der die Forschung motiviert. Das heutige methodische Wissen in den Disziplinen Physik, Chemie, Statistik und Informatik, oft an und für Systeme(n) entwickelt, die „weit weg“ von der Biologie sind, können helfen, die vielen Einzelerkenntnisse der Molekularbiologie, Genetik und Medizin näher zusammen zu bringen. Allein diese Synergie-Effekte aus der (teilweisen) Verschmelzung der klassischen Forscherdisziplinen sind schon sehr vielversprechend. Das wird letztlich durch Rückübertragungen auf theoretisches oder technologisches Wissen aus den ursprünglichen, nicht-biologischen Bereichen auch dort zu wertvollen Weiterentwicklungen führen.

Biophysik ist also weder Mode noch Selbstzweck, sondern Teil eines hochkomplexen Forschungsgebietes, das sich ein umfassendes Verständnis der lebenden biologischen Zelle als Fernziel gesetzt hat. Das heutige Wissen der Zellbiologie ist bereits beträchtlich, und zahlreiche Etappenziele sind auch dank physikalischer Methoden erreicht worden. Aufholbedarf besteht aber durchaus bei einzelnen Fragen. Hierzu gehören z. B. die elektrischen Effekte in der Biologie, die nicht unmittelbar an Nervensignalen beteiligt sind und nicht direkt zu chemischen Reaktionen beitragen. Die biologische Zelle enthält

viele elektrisch geladene, atomar kleine Ionen bis makroskopisch große Bestandteile (Biopolymere, Proteine), die über ihre elektrischen Felder physikalisch miteinander wechselwirken. Die Summe dieser Wechselwirkungsenergien kann eine beträchtliche Größe erreichen, ihre Minimierung wird so zum Ziel biologischer Selbstorganisation.

Die größtenteils elektrisch bedingte, räumliche Verteilung der Ionen im thermischen Gleichgewicht ist wissenschaftlich von großem Interesse, weil sie die kleinsten und beweglichsten Ladungsträger in der Zelle sind. Sie bestimmen z. B. für viele Computersimulationen die sehr kleine Größe eines Zeitintervalls. Sie können den pH-Wert beeinflussen. Die Gegenionen vermitteln aber auch effektive Kräfte zwischen den geladenen makroskopischen Zellbestandteilen und bestimmen dadurch mit über deren räumliche Anordnung. Diese Anordnung wiederum kann für das Zustandekommen chemischer Reaktionen der Makromoleküle miteinander entscheidend sein und Reaktionsraten sowie das Ausmaß genetischer Aktivitäten mitbestimmen. Sie erfährt deshalb zunehmende wissenschaftliche Aufmerksamkeit.

Die Verteilung der Ionen ist gerade im biologisch interessanten Falle größerer Ionendichten, wie sie in der Nähe von Biopolymeren oder Proteinen vorkommen, nur unzureichend erforscht, sowohl experimentell als auch theoretisch. Auf theoretischer Seite liegt die Hauptschwierigkeit darin, das bei größeren Dichten wichtige Ionenvolumen angemessen zu berücksichtigen. Es verursacht bei den Ionen eine gegenseitige sterische Behinderung, beeinflusst ihre Dichteverteilung und verändert ihre Korrelationen untereinander. Bisher ist jedoch das Volumen der Ionen nicht angemessen modelliert worden (am aussichtsreichsten in [20]), obwohl der Bedarf hierzu in jüngster Zeit zunimmt, siehe z. B. [6].

Die vorliegende Arbeit trägt dazu bei, diese Lücke zu schließen.

Der Aufbau dieser Arbeit:

Kapitel 2 und 3 präzisieren und motivieren die Fragestellung ausführlich und stellen bisherige Arbeiten vor. Es werden verschiedene theoretische Methoden diskutiert und die geeignetste ausgewählt. Der gegenwärtige Stand der experimentellen Möglichkeiten wird umrissen.

Kapitel 4 führt über eine detaillierte Modellbildung für voluminöse Ionen an geladenen Biopolymeren zunächst zur Aufstellung der Hamiltonfunktion in einem Gittergasmmodell. In iterativ immer genaueren Näherungen werden anschließend die Erwartungswerte für Dichteprofile und Korrelationsfunktionen der Ionen mit Methoden der Statistischen Physik berechnet. Die in Kapitel 2 motivierten Anwendungen des Modells ergeben sich hieraus in einfacher Weise.

Kapitel 5 löst die Modellgleichungen aus Kapitel 4 numerisch, wobei man mit demselben Algorithmus alle Näherungen für die Dichteprofile oder Korrelationsfunktionen

berechnen kann. Verschiedene Tests und Vergleiche mit den wenigen analytisch lösba- ren Grenzfällen demonstrieren die Leistungsfähigkeit des Algorithmus auch in allge- meinen Situationen.

Kapitel 6 stellt Ergebnisse für das wichtige Beispielsystem „DNA mit Gegenionen“ vor, die im Kontext bisheriger Arbeiten ausführlich analysiert und diskutiert werden. Dadurch kann das neue theoretische Modell als Alternative zu den numerisch erheb- lich aufwendigeren Molekulardynamik-Simulationen etabliert werden und gestattet detail- lierte Einblicke in die Physik solcher Systeme.

Kapitel 7 faßt diese Arbeit zusammen und gewährt einen Ausblick auf zukünftige weiterführende Fragestellungen.

2 Motivation

Es gibt eine Vielzahl von Motiven, sich mit der räumlichen Verteilung von Ionen in der biologischen Zelle zu beschäftigen, von grundlegenden, bis hin zu sehr speziellen. Der Einfluß des Volumens der Ionen auf ihre Verteilung gehört zu den grundlegenden Fragen. Der Nutzen ihrer Beantwortung kann am besten anhand einfacher aber aussagekräftiger Beispiele studiert werden. Die Modellbildung selbst darf nicht auf die Einfachheit der Beispiele angewiesen sein, so daß eine Übertragung auf viele kompliziertere Situationen unproblematisch ist. Ihre Grenzen werden später in Kapitel 4.1 diskutiert.

Im folgenden werden zwei Beispiele aus der aktuellen Literatur vorgestellt. Weitere Anregungen können [35] entnommen werden.

2.1 Dichteverteilung voluminöser Gegenionen; Korrelation, Kondensation

Die elektrischen Felder an geladenen Biomolekülen, wie z. B. der DNA, sind oft stark genug, um eine erhebliche Anzahl an entgegengesetzt geladenen Gegenionen anzuziehen. Deren Abstände untereinander werden dadurch trotz der gegenseitigen elektrischen Abstoßung so klein, daß ihr vergleichsweise großes Volumen in wässriger Lösung (siehe auch Tabelle 4.1 auf Seite 30) nicht vernachlässigbar ist (vgl. [6, im Abstract]). Das führt zu einer spürbaren gegenseitigen sterischen Behinderung der Gegenionen. Ferner sind für derart kleine Teilchenabstände auch erhebliche Teilchenkorrelationen zu erwarten. Beide Effekte, Korrelationen und sterische Behinderungen auf kleinen Längenskalen, können die globale Dichteverteilung der Gegenionen erheblich beeinflussen. Sie sind in ihrem Zusammenspiel aus verschiedenen Gründen weder theoretisch noch experimentell untersucht worden.

Experimentelle Untersuchungen sind äußerst anspruchsvoll, weil die ladungstragenden Biopolymere in wässriger Lösung nicht bzw. nicht lange genug fixiert werden können, um dann die Gegenionenverteilung mit hochauflösenden (< 1 nm) Streuungsmethoden zu untersuchen, siehe z. B. [35]. Jüngste Fortschritte in der Methode der Anormalen Kleinwinkel-Röntgenstreuung von Elektrolyten [24, 8], die ohne eine Fixierung der Biopolymere auskommt, sind ermutigend, vgl. Abschnitt 3.3. Aber auch diese Methode kann gegenwärtig (Mitte 2006) noch keine Daten mit ausreichender Genauigkeit zur Verfügung stellen.

Die theoretischen Modelle der Statistischen Physik für Gegenionenverteilungen entwickelten sich bisher entlang phänomenologisch begründbarer Modelle. Diese schienen bislang trotz ihrer ungelösten Probleme auf kurzen Längenskalen gegenüber mathematisch aufwendigeren Ansätzen keine Nachteile zu haben. Sie können aber bisher trotz

zahlreicher Bemühungen Volumen und Korrelationen der Gegenionen nicht gleichzeitig hinreichend beschreiben¹. Verschiedene Hilfsannahmen auf kurzen Längenskalen führen zur Vorhersage von Ladungskondensationsphänomenen, siehe z. B. [11, 39, 46]. Unter einer Kondensation von Ladungen sei in dieser Arbeit² die Segregation von Ionen zu einer zweiten Phase verstanden oder eine permanente Bindung entgegengesetzter Ladungen aneinander. Inwiefern eine Ladungskondensation tatsächlich auftreten kann, ist nicht abschließend geklärt und Gegenstand aktueller Diskussionen [34].

Lediglich rechnerisch sehr aufwendige Computermodelle (Molekulardynamik-Simulationen) sind bisher verfügbar [10, 28], um Gegenionen mit Volumen- oder Korrelationseffekten zu studieren. Die Aussagekraft der Computermodelle über die physikalischen Ursachen der dort beobachteten Dichteverteilungen ist jedoch beschränkt; ihre eigentlichen Stärken liegen in der zeitlichen Auflösung schneller Dynamiken. Daß sie dennoch für diese Fragestellung eingesetzt werden, liegt nicht nur an den im nächsten Abschnitt 2.2 genannten Gründen, sondern dokumentiert auch das bisherige Fehlen neuer theoretischer Methoden für diese Fragestellungen.

Abbildung 2.1 auf Seite 7 zeigt (jeweils in anderer Farbe) repräsentative Beispiele für die Pfade eines Na^+ Ions nahe der negativ geladenen DNA-Doppelhelix, die elektrisch detailliert modelliert wurde. Die Simulationsdauer beträgt jeweils 1,4 ns. Das Computermodell beinhaltet weitere Na^+ Ionen, deren Pfade nicht abgebildet worden sind: Das Gesamtsystem ist elektrisch neutral. Die Ionen besitzen eine Hydrathülle, wie sie auch zur Modellierung der Ionen in dieser Arbeit verwendet wird, vgl. Abbildung 4.1 auf Seite 29. Die Abbildung ist eine Projektion aus dem Dreidimensionalen, die Pfade durchdringen die DNA nicht.

Diese Situation, negativ geladene DNA mit positiv geladenen Gegenionen (u. a. Na^+) in einem elektrisch insgesamt neutralen System, wird auch in dieser Arbeit in Kapitel 6 verwendet, um die Leistungsfähigkeit der in Kapitel 4 entwickelten Theorie zu demonstrieren.

Man erkennt dreierlei: Erstens: Es gibt entlang der DNA bevorzugte Plätze, wo sich das einzelne Na^+ Ion zeitlich häufiger aufhält. Das ist ein Indiz dafür, daß in diesen Regionen auch die zeitlich gemittelte Dichte der Na^+ Ionen erhöht ist, aber kein Beweis: Denkbar ist auch, daß in anderen Regionen lediglich der Platztausch mit anderen Na^+ Ionen schneller ist. Die zitierte Arbeit untersucht diese Fragestellung nicht. Dennoch verdeutlicht diese Überlegung, daß es wichtig ist, nicht nur über die Effekte des Ionen Volumens, sondern auch über die gleichzeitige Berücksichtigung von Korrelationen auf kleinen Längenskalen mehr zu wissen, und auch theoretisch beschreiben zu können. Die Kenntnis von Dichteverteilung und Paarkorrelationen der geladenen Gegenionen vermag z. B. auch Auskunft zu geben, wieviel Platz in der Nähe der DNA für den Transport von elektrisch neutralen, aber physiologisch oder chemisch wichtigen Molekülen vorhanden

¹Die Theorie dieser Arbeit verzichtet ab Abschnitt 4.3 erfolgreich auf eine phänomenologische Begründbarkeit; vgl. auch die Übersichtsabbildung 3.1 auf Seite 16 im Zusammenhang mit der Auswahl der theoretischen Methoden dieser Arbeit.

²Manche Arbeiten benutzen einen weiter gefaßten Begriff der Kondensation im Sinne einer lockeren Bindung verschiedener Ladungsträger aneinander, der vergleichbar ist mit dem Konzept der Hydrathülle in Abbildung 4.1, vgl. auch Abschnitt 4.1.2.

Motivation: Dichteverteilung im Gleichgewicht



Abbildung 2.1: Beispiele für die Bewegungspfade (in verschiedenen Farben bzw. Graustufen) jeweils eines einfach positiv geladenen Natrium-Ions in der Nähe negativ geladener DNA (deren chemische Struktur durch die breiten Linien in der Bildmitte angedeutet ist), gewonnen aus einer Molekulardynamik-Simulation in einem insgesamt elektrisch neutralen System.

Die Abbildung ist urheberrechtlich geschützt. Genehmigter Nachdruck aus *SCIENCE* 294:567-571(2001), siehe auch [10]. Der in Washington DC, USA ansässige Rechteinhaber „Science AAAS“ wünscht den wörtlichen Abdruck des folgenden Hinweises:

Reprinted with permission from AAAS, Ref# 06-17808, February 14 2006, revised March 02 2006, submission id# 31588. Copyright 2001. Readers may view, browse, and/or download material for noncommercial personal purposes. Except as provided by law, this material may not be further reproduced, distributed, transmitted, modified, adapted, performed, displayed, published or sold in whole or in part, without prior permission from the publisher.

Elektronische Quelle vom 05.03.2006:

<http://www.sciencemag.org/content/vol294/issue5542/images/large/se4019860001.jpeg> Eine höher aufgelöste, leicht abgewandelte Version dieser Abbildung, für die keine Nachdruckgenehmigung vorliegt, kann z.Z. im Internet eingesehen werden [67]. Dem Rechteinhaber sei für seine Nachdruckgenehmigung und seine freundliche Unterstützung gedankt.

ist.

Zweitens: Selbst die Ionen, die sich sehr nahe an der DNA befinden, sind nicht fest an bestimmte räumliche Orte gebunden, sondern bleiben räumlich beweglich, auch senkrecht zur DNA. Das spricht gegen eine Beschreibung mit Theorien, die intrinsisch Kondensationsphänomene enthalten. Bisher war eine solche Beschreibung jedoch für die meisten biologisch interessanten Fälle nicht möglich, die Gründe hierfür lassen sich verschieden formulieren: zu hohe Ladungsdichten, Ionenvolumen nicht vernachlässigbar, etc.. Der theoretische Ansatz dieser Arbeit eröffnet hier neue Möglichkeiten, gleichzeitig hohe elektrische Felder, Ionenvolumen und -korrelationen zu berücksichtigen, ohne auf das künstliche Konzept der Ladungskondensation angewiesen zu sein.

Drittens: Die elektrische Struktur der DNA entlang ihrer Längsachse vermag zwar die Verteilung der ihr nächsten³ Gegenionen zu beeinflussen. Diese Gegenionen können wohl aber aufgrund ihrer nur mäßig eingeschränkten Beweglichkeit die elektrischen Inhomogenitäten in DNA-Längsachsenrichtung weitgehend abschirmen, so daß die zweitnahesten Ionen diese nur unerheblich spüren. Die Modellbildung für die DNA in Abschnitt 4.1 geht daher von vornherein von einer homogen geladenen DNA aus. Damit ist dieses auch biologisch wichtige System gleichzeitig ein geometrisch unkompliziertes System (im Vergleich mit anderen geladenen Biopolymeren oder Proteinen), und eignet sich gut dafür, als Beispielsystem für die Theorie dieser Arbeit zu dienen.

2.2 Effektive Kräfte und Potentiale zwischen großen Biomolekülen

Anders als im vorangegangenen Abschnitt 2.1 ist hier die räumliche Verteilung der Gegenionen nicht das eigentliche Studienobjekt, sondern deren Einfluß auf große, geladene Biopolymere.

Man stelle sich ein System elektrisch geladener großer Biomoleküle vor, die von vielen kleinen Ionen umgeben sind. Das Verhalten dieser Biomoleküle sei von primärem Interesse, z. B. um deren biologische Funktionen zu untersuchen.

Die Ionen sind sehr viel beweglicher als die großen Biomoleküle. Veränderungen der Koordinaten⁴ der großen Biomoleküle führen daher zu quasi-statischen, reversiblen Änderungen des thermischen Gleichgewichts der Ionen. Kennt man die Gleichgewichtsverteilungen der Ionen in Abhängigkeit von den Koordinaten der großen Biomoleküle, kann man daraus die thermodynamischen Potentiale (meist sind die Freie Energie oder das Großkanonische Potential von Interesse) des Gesamtsystems ausrechnen. Weil die großen Moleküle das Gleichgewicht der Ionen stets reversibel verändern, können diese thermodynamischen Potentiale als mechanische Mehrteilchenpotentiale im newtonschen Sinne interpretiert werden [40]. Sie werden als *effektive Potentiale* bezeichnet, weil sie nur noch von den Koordinaten der großen Biomoleküle abhängen und nicht mehr von denen der

³Das üblichere Wort „nächsten“ könnte im Sinne einer (zeitlichen) Folge mißverstanden werden.

⁴Sie enthalten hier für nicht-kugelsymmetrische Moleküle auch deren Orientierung im Raum.

Ionen. Durch Ableiten ergeben sich sofort die effektiven Kräfte ruhender, großer Biomoleküle aufeinander. Aus ihnen lassen sich auch die Bewegungsgleichungen der Biomoleküle gewinnen, wenn zusätzlich deren viskose Reibung in der Zellflüssigkeit berücksichtigt wird.

Die Lösung dieser Bewegungsgleichungen mit dem Computer ermöglicht heutzutage die realistische Simulation über Zeitintervalle, die groß genug sind, um z. B. die Bewegung ganzer Molekülverbände zu untersuchen. Für eine entsprechende Untersuchung über ähnliche Zeitintervalle, die die Ionen mit berücksichtigt, wird auf absehbare Zeit nicht genügend Rechenleistung zur Verfügung stehen. Es müssten nicht nur sehr viel mehr gekoppelte Bewegungsgleichungen gelöst werden, sondern es wären auch die für die Bewegung der Ionen typischen, sehr viel kleineren Zeitschritte in der Simulation zu berücksichtigen. Die Kenntnis effektiver Potentiale ist daher wichtig, und damit die detaillierte Kenntnis der Gleichgewichtsverteilung der Ionen zu festen Koordinaten der großen Biomoleküle (allgemeiner: zu zeitlich konstanten, äußeren elektrischen Feldern). Die elektrischen Felder sind in der Nähe vieler geladener Biomoleküle recht groß, so daß sie zahlreiche gegensätzlich geladene Ionen anziehen. Deren Abstände zueinander können dabei so klein werden, daß sie sich durch ihre endliche Größe sterisch behindern (vgl. Tabelle 4.1 auf Seite 30). In solchen Fällen muß zur Berechnung der Ionenverteilung das Ionen volumen berücksichtigt werden.

Im allgemeinen lassen sich die effektiven Mehrteilchenpotentiale der Biomoleküle nicht auf paarweise Wechselwirkungen zurückführen, sondern bestenfalls durch sie annähern. Dennoch ist die Bestimmung effektiver Paarwechselwirkungen ein erster, wichtiger Schritt, und kann durch Molekulardynamik-Simulationen (abgekürzt: MD) erfolgen. Abbildung 2.2 aus [4] auf Seite 10 zeigt einen Schnappschuß aus einer solchen Simulation für eine sehr einfache Geometrie (Paarpotential nur vom Abstand abhängig). Für kompliziertere Geometrien, wo auch Orientierungen der Moleküle zueinander wichtig werden, oder für Dreiteilchen-Potentiale sind jedoch auch die MD-Simulationen rechnerisch zu aufwendig, um für alle Konfigurationen der Biomoleküle durchgeführt werden zu können.

Es ist daher wichtig, eine Theorie zu entwickeln, die alle relevanten Eigenschaften der Ionen berücksichtigt, auch deren Volumen, um deren Gleichgewichtsverteilung in äußeren elektrischen Feldern zu bestimmen, ohne die Ionen im einzelnen explizit simulieren zu müssen. Das ist mit der Theorie der vorliegenden Arbeit erreicht worden, die zusätzlich auch Korrelationsfunktionen der Ionen in ähnlicher Weise zugänglich macht.

Zwar müssen auch hier die Modellgleichungen numerisch gelöst werden, jedoch reicht hierzu ein sehr viel kleinerer numerischer Aufwand, der zudem keine Aufteilung in n -Teilchen-Potentiale notwendig macht. Insbesondere hängt der numerische Aufwand hier *nicht* von der Anzahl der Gegenionen ab. Darüberhinaus ergeben sich anhand der Struktur der Gleichungen tiefere Einblicke in die Physik des Systems. Vergleiche von Ergebnissen aus der Theorie dieser Arbeit mit einer MD-Simulation zur Bestimmung von Ionenverteilungen aus [28] bestätigen in den Abschnitten 5.3 und 6.2 die Leistungsfähigkeit der Theorie dieser Arbeit.