

# 1 Zusammenfassung

Biomoleküle sind die Grundbausteine von lebenden Organismen. Die Funktion, die Größe, die physikalischen Eigenschaften dieser Biomoleküle sind vielfältig und komplex. Eine wichtige Rolle für den Aufbau einer biologischen Zelle kommt der Zellmembran zu. Sie ist nicht nur eine passiv, schützende Hülle gegen äußerer Einflüsse, sie stellt auch aktiv die korrekte Versorgung des Zellinneren sicher.

Diese Biomembrane sind komplexe supramolekulare Aggregate, deren Grundgerüst aus einer Lipiddoppelschicht besteht, in das sich Cholesterol zur Stabilisierung des Gerüsts einlagert und diverse Proteine durch An- und Einlagerung Transport- oder Rezeptoreigenschaften übernehmen.

Die physikochemischen Eigenschaften der Membran werden durch die Lipidebestimmt, aus denen sie aufgebaut ist. Eine reine Lipidmembran ist also gut als Modell zur Untersuchung dieser geeignet.

Diese Eigenschaften ergeben sich nicht nur aus Konstitution, Konfiguration und Konformation des Einzelmoleküls, sondern werden zudem auch durch die intermolekularen Wechselwirkungen bestimmt. So aggregieren die einzelnen Moleküle bei Kontakt mit einem Solvens spontan und bilden hochsymmetrische Überstrukturen wie die Doppelschichten aus. In biologischen Systemen ist dieses Solvens in der Regel Wasser. In dieser Arbeit wurde deswegen als Modell eine Lipidmembran aus reinem DPPC mit Wasser als Solvens untersucht.

Die hydrophoben Alkylketten weisen bei solchen Doppelschichten in das Membraninnere, um die hydrophob/hydrophil-Grenzfläche zu vermeiden, während die polare Kopfgruppe in das Solvens reicht. Die Membran zeigt also ein lyotropes Verhalten, welches bereits Gegenstand vieler Experimente war. Weiteren Einfluss auf die Membraneigenschaften werden durch Temperatur und Druck ausgeübt. Auch die thermotropen Eigenschaften sind sowohl durch Experiment als auch durch Simulation hinreichend bekannt. Druckinduzierte Änderungen und daraus resultierende strukturelle Eigenschaften der verschiedenen Phasen hingegen sind noch wenig untersucht. In dieser Arbeit wurden sowohl druckinduzierte Änderungen innerhalb einer Phase als auch Änderungen durch Übergang in die nächste Phase mittels Molekulardynamik untersucht.

Bei der Wahl des Kraftfelds und des daraus resultierenden Systems wurde Wert auf ein atomistisch genaues und realistisches Modell gelegt, was einen erheblichen Rechenaufwand und die Auswertung großer Datenmengen verlangte. Die Simulationsergebnisse stimmen, soweit ein Vergleich möglich ist, in großen Teilen mit dem Experiment überein. Sie verifizieren viele grundsätzliche Annahmen bezüglich der molekularen Struktur, welche aufgrund experimenteller Ergebnisse gemacht wurden. Abweichungen der Simulation vom Experiment können gut bewertet werden. Neben den Grenzen der Simulation zeigen sie in einigen Teilen aber auch Schwachpunkte des Experiments (wie zum Beispiel eine zu geringe Auflösung) und führen zu einer besseren Interpretation bisheriger Ergebnisse.

Zu Beginn der Simulationen wurde überprüft, ob es sich bei den Simulationen der

entsprechenden Drücke wirklich um die gesuchte Phase handelt. Dazu wurden die zweidimensionalen Paarverteilungen und die Konformation einiger ausgesuchter Winkel und die Gruppenverteilungen miteinander verglichen. Das Ergebnis zeigte, dass alle 5 Simulationen spezifische Phaseneigenschaften, wie Packung oder Neigung von funktionellen Gruppen zeigten.

Die  $L_{\beta i}$  Phase wurde als Phase, die sich über den kleinsten Druckbereich erstreckt, ausgewählt und bei sieben Drücken simuliert. Es zeigte sich, dass der Druckbereich der  $L_{\beta i}$  Phase im Vergleich zum Experiment zu höheren Drücken verschoben ist. Viele Simulationen anderer Systeme zeigen bei der Untersuchung eine Verschiebung innerhalb des Phasendiagramms, und liefern trotzdem sehr gute Ergebnisse bezüglich der strukturellen und dynamischen Eigenschaften der untersuchten Phase. Deswegen wird hier keine abschließende Bewertung abgegeben, welches Experiment genauere Auskunft bezüglich Druck- und Temperaturbereichs gibt, oder wie gut oder schlecht die Simulation ist.

Innerhalb der  $L_{\beta i}$  Phase konnte gezeigt werden, dass die druckinduzierten Änderungen etwa proportional zur Druckänderung verlaufen, so dass in dieser Arbeit lediglich die Untersuchung zu Beginn der Phase bei 1800 bar und am Ende der Phase bei 3000 bar beschrieben wurde.

Ein wichtiges phasenspezifisches Merkmal ist die zweidimensionale Packung der Membran. Diese wurde mit Hilfe der zweidimensionalen x-z-Paarverteilung untersucht. Hier traten für die  $P_{\beta'}$  und die  $L_{\beta i}$  Phase hexagonale Packungen auf. Die Packung der  $L_{\beta i}$  Phase ist deutlich stärker verzerrt. Diese Arbeit konnte als Ursache für die stärkere Verzerrung das Auftreten einer gestaffelten Anordnung der Moleküle benennen.

Die Gel III Phase hingegen zeigt laut Experiment eine orthorombische Packung also eine quadratische Umgebung des Zentralteilchens. Bei einer oberflächlichen Betrachtung der Ebenen-Paarverteilung könnte man zu einem ähnlichen Ergebnis kommen. Doch die genauere Analyse zeigt eine oktagonale Umgebung des Zentralteilchens, bei dem sich jeweils zwei Maxima zu einem breiten Maxima überlagern. Dies geht ganz klar aus der Anzahl der übernächsten Nachbarn und der Lage von Zwischenpeaks hervor. Die Gel IV und die Gel V Phase zeigen die im Experiment beschriebene hexagonale Umgebung. Hierbei fällt die geringere Verzerrung der Gel V Phase auf, die auf einer nicht gestaffelten Anordnung beruht.

Die schon angesprochene Stafflung der Moleküle wird bei der Betrachtung der zylindrischen Paarverteilung deutlich. Bei Auftreten einer Stafflung tritt jeweils ein sehr schmaler Peak auf. Auch wenn er sehr schmal ist (nur ein Punkt), stellt er in jeder Verteilung deutlich das absolute Maximum dar.

Die Schichtdicke der Membran ist ebenfalls abhängig vom Druck. Eine Änderung der Schichtdicke kann mehrere Ursachen haben.

Einzig für die  $L_{\beta i}$  Phase wird im Experiment eine Reduktion der Schichtdicke durch die Interkalation der gegenüberliegenden Alkylgruppen postuliert. In den Simulationen ist eine minimale Interkalation beziehungsweise ein Berühren der

Ketten in allen Phasen beobachtet worden. Allerdings ist die Interkalation in der  $L_{\beta_i}$  Phase viel stärker als in den anderen Phasen. Innerhalb der  $L_{\beta_i}$  Phase konnte ein Ansteigen der Interkalation mit steigendem Druck beobachtet werden. Dies bestätigt die Aussage des Experiments. Auch in der Gel III Phase wurde in der Simulation eine etwas stärkere Interkalation gefunden. Das Experiment bestätigt auch für diese Phase eine geringere Membrandicke, geht hingegen in dieser Phase aber nicht von einer Interkalation, sondern von einer starken Neigung der Alkylketten zur Verringerung der Membrandicke aus.

Einer Untersuchung der Neigung verschiedener funktioneller Gruppen oder auch einzelner Bindungen zur Membrannormalen wurde mit Hilfe von Orientierungsverteilungen durchgeführt. Dazu wurde der Winkel zwischen der Membrannormalen und dem Vektor zwischen den Schwerpunkten beider funktionellen Gruppen beziehungsweise dem Bindungsvektor bestimmt. Um die Neigung der Alkylketten zu untersuchen wurde ein Vektor zwischen dem ersten und dem letzten C-Atom der Kette gespannt und die Winkelverteilung zwischen dem Vektor und der Membrannormalen aufgetragen. Des Weiteren wurde untersucht, ob es sich bei den bevorzugten Winkeln um einen Tilt beider Ketten handelt oder beide in unterschiedliche Richtungen ausgelenkt sind. Hier ergab sich nur für die  $L_{\beta_i}$  und die Gel III Phase ein gemeinschaftlicher Tilt. Der experimentell bestimmte Tilt der  $P_{\beta'}$  Phase konnte nicht bestätigt werden. Der Tilt der Gel III Phase hingegen schon. Hierbei zeigt sich für die Ketten eine geringere Neigung, als die im Experiment bestimmte. Dies korreliert unmittelbar mit dem geringeren Abstand zwischen beiden Membranseiten bei richtig bestimmter Membrandicke. Der Tilt in der  $L_{\beta_i}$  Phase ist innerhalb der Phase druckabhängig und nimmt mit steigendem Druck zu. Gel IV und Gel V Phase haben sowohl in der Simulation als auch im Experiment keinen gemeinschaftlichen Tilt aufweisen können.

In dieser Arbeit wurde aber nicht nur ein Tilt der langen Alkylketten bestimmt, sondern auch die Neigung der Kopfgruppe. Der Vektor der zwischen Cholin- und Phosphatgruppe aufgespannt ist, gibt die Richtung der Kopfgruppe im Vergleich zur Membrannormalen an. Auch hier wurde eine entsprechende Winkelverteilung untersucht. Diese Verteilung zeigt phasenabhängig deutliche Unterschiede. Allen Phasen ist gemein, dass die Kopfgruppen stark geneigt sind. Alle Phasen mit einer gestaffelten Anordnung zeigen ein zweites Maximum bezüglich der Neigung der Kopfgruppe. Es entsteht durch die Staffelung der Moleküle, da der Abstand der Kopfgruppe zwischen zwei Molekülen aufgrund der großen elektrostatischen Wechselwirkungen konstant ist.

Diese starken elektrostatischen Wechselwirkungen sind ebenfalls dafür verantwortlich, dass Konformationen der Kopfgruppe recht stabil sind, und bei einem Phasenwechsel keine großen Abweichungen zeigen. Die unterschiedlichen Orientierungen, die bei gestaffelten Konformationen der Membran auftreten, ergeben sich in erster Linie durch eine Änderung der Häufigkeiten, mit denen gauche<sup>+</sup> und gauche<sup>-</sup>-Winkel in einer einzigen Bindung auftreten.

Die Konformationsanalyse der Glycerin-Gruppe hingegen ist aufgrund der Verzwei-

gungen wesentlich komplexer. Die Glyceringruppe ist das Zentrum des Moleküls und ihre Konformation entscheidet über die relative Lage der Gruppen zueinander. Trotzdem gibt es keine experimentell durchgeführte Konformationsanalyse. Ein Beispiel für die große Bedeutung der Konformation der Glyceringruppe und ihre Auswirkung auf die Konformation der anderen funktionellen Gruppen ist die Lage der Ketten zueinander. Diese wird durch einen Diederwinkel der Glyceringruppe bestimmt. Ist der Drehwinkel zwischen dem zweiten und dritten Kohlenstoffatom (also den beiden C-Atomen, die mit den beiden Alkylketten über die Estergruppe verbrückt sind) in cis-Stellung, so sind die Ketten parallel ausgerichtet (Wie oben beschrieben stehen die Ketten nicht genau parallel, sondern haben eine Auslenkung von etwa  $14^\circ$ , um den sterischen und elektrostatischen Abstoßungen der beiden Estergruppen gerecht zu werden). Stellt sich nun ein gauche oder womöglich trans-Winkel ein, so muss sich zwangsläufig der gauche-Anteil in den Ketten erhöhen, damit diese nach wie vor in das Membraninnere weisen.

Im Gegensatz zur Konformation der Glyceringruppe ist die Konformation der Alkylketten Thema in experimentellen Untersuchungen des Systems.

Experimentelle Untersuchungen ergaben eine Zunahme des trans-Anteils mit steigendem Druck und schließlich eine nahezu vollkommen gestreckte Alkylkette ab der Gel III Phase. Dies konnte in den Simulationen nicht ohne deutliche Einschränkungen bestätigt werden. Alle Hochdruck-Simulationen zeigen einen trans-Anteil von über 80%. Beim Vergleich mit der Simulation der flüssigkristallinen Phase, die einen trans-Anteil von unter 70% aufweist, zeigt sich wie im Experiment ein sprunghafter Anstieg von der flüssigkristallinen zur Gel Phase. Allerdings kommt es in keiner Phase zu einer vollkommen gestreckten Anordnung aller Moleküle im zeitlichen Mittel. Im Gegenteil: bei den Phasen mit größerem Druck sinkt der trans-Anteil sogar minimal ab. Was sich aber ändert, ist die Art und Weise der Kombination zwischen gauche und trans-Anteilen. Und genau diese Kombinationen sorgen für eine Änderung des Gesamtplatzbedarfs und eine in sich gestrecktere oder geknäultere Anordnung der Kette. Hauptursache für die Streckung der Ketten der Hochdruckphasen ist also nicht ein Anstieg an trans-Konformationen, sondern eine Änderung der Konformationskombinationen. Eine derartige Auflösung einzelner Konformationskombinationen ist experimentell nicht möglich. Wegen dieser experimentell gesetzten Grenzen ist die Durchführung ergänzender Simulationen zur vollständigen Strukturbestimmung so wichtig.