

# **Molekuly a ionty v pohybu: Počítačové simulace biochemických a biofyzikálních procesů**

*Pavel Jungwirth*

*Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo  
nám. 2, Praha 6. e-mail: pavel.jungwirth@uochb.cas.cz*

**Klíčová slova:** molekulová dynamika, bílkoviny, buněčné membrány, ionty solí,  
radiační poškození DNA, hydratované elektrony

## **Obsah**

- 1. Úvod**
- 2. Interakce mezi ionty a bílkovinami**
- 3. Modelování buněčných membrán**
- 4. Radiační poškození DNA**
- 5. Závěr**

## 1. Úvod

Hydratace iontů a specifické interakce iontů s biomolekulami hrají klíčovou úlohu v mnoha přírodních a biotechnologických procesech. Počítačové simulace, prováděné v naší skupině, se zaměřují na vliv rozpouštědla (zejména vody a rozpuštěných iontů, ale také osmolytů a elektronů) na chování biomolekul, studovaných experimentálně kolegy na ústavu i mimo něj. Naším cílem je pochopit tyto interakce na molekulové úrovni, mimo jiné i s vidinou praktických aplikací, jako je ovlivňování asociace bílkovin, aktivity enzymů, membránových struktur, lipidových monovrstev a podobně. Soustředíme se přitom na pochopení tzv. lyotropní nebo Hofmeisterovy řady, která srovnává ionty podle jejich schopnosti vysolovat bílkoviny (Obr. 1).<sup>1,2</sup>

Od svého vytvoření v r. 1888 byla Hofmeisterova řada použita k racionalizaci celé řady efektů, od vysolování, vsolování a denaturace bílkovin, přes enzymovou aktivitu, po iontovou výměnu a povrchové napětí elektrolytů.<sup>3</sup> I když je dnes zřejmé, že Hofmeisterova řada blízce souvisí s hydratací iontů v homogenním a nehomogenním prostředí a s iontovým párováním, teprve v posledních letech začínáme pořádně chápat její molekulový základ.<sup>4</sup> Situaci bylo možné donedávna popsat následujícím způsobem: biochemici a fyzikální chemici používali Hofmeisterovu řadu spíše jako „mantru“, označující iontově specifické chování v různých prostředích, než aby se systematicky snažili o porozumění na molekulové úrovni, která by v posledu umožnila předpovídat biofyzikální či biochemický efekt dané soli. V naší skupině se soustředíme na zkoumání specifických interakcí iontů s peptidy a bílkovinami ve vodném prostředí, jakož i s buněčnými membránami. Na základě pečlivě navržených a experimentálně verifikovaných molekulově dynamických simulací se přibližujeme k formulaci obecných pravidel, kterými se řídí

interakce biologicky relevantních iontů s bílkovinami a membránami a v posledu i k pochopení vlivu iontů na jejich biologickou funkci.

Standardní cestou k získání nabitých částic ve vodě je rozpouštění solí. Méně obvyklou cestou je fotoionizace, která vede k vytvoření radikálového kationtu a k uvolnění elektronu. V biologickém kontextu ionizující záření souvisí s přímým a nepřímým poškozováním DNA tak, jak je využíváno např. při radiační nádorové terapii.<sup>5</sup> V rámci studia přímého poškozování DNA provádíme rozsáhlou výpočetní studii, doplněnou fotoelektronovou spektroskopií v kapalných paprscích z mikrotrysek, s cílem určit ionizační potenciály bazí DNA, jak už izolovaných, tak inkorporovaných v DNA ve vodném prostředí. V rámci studia nepřímého poškozování DNA modelujeme proces fotoionizace vody a sledujeme chemickou dynamiku vzniklého radikálového kationtu i hydratovaného elektronu.

## **2. Interakce mezi ionty a bílkovinami**

V návaznosti na předcházející výzkum<sup>6</sup> naše studie ukazují, že interakce iontů s bílkovinami mají lokální character, a proto mohou být dobře popsány jako iontové párování s nabitými a polárními postranními řetězci, polární páteří bílkoviny a nepolárními skupinami. Díky tomuto lokálnímu charakteru lze s úspěchem použít redukcionistický přístup<sup>7</sup> a fyzikální principy interakcí iontů s bílkovinami lze odvodit z interakcí s jednotlivými aminokyselinami, či dokonce pouze s jejich funkčními skupinami. Z tohot důvodu jsme kromě simulací celých bílkovin prováděli také výpočty interakce mezi ionty solí a jednotlivými aminokyselinami, či pouze modelů pro postranní řetězce či bílkovinnou páteř. Cílem bylo srovnat ionty podle síly jejich interakce s těmito jednotlivými funkčními skupinami. Tato studie nám také dovolila kriticky testovat použitelnost empirického „pravidla odpovídajících si vodních afinit“,

kteřé řiká, že daný ion nebo nabitá skupina se bude dobře párovat s protiontem se srovnatelnou hydratační volnou energií.<sup>6</sup> Dále jsme studovali chování iontů na povrchu vody a na rozhraní voda/olej, což je nejjednodušší model pro interakce iontů s hydrofóbními oblastmi na povrchu bílkoviny.

První otázku, kterou jsme si v této souvislosti položili, byla zda dokážeme na molekulové úrovni porozumět, proč se sodík páruje lépe se záporně nabitou karboxylovou skupinou než draslík. Odpověď na tuto otázku není jen čistě akademická, protože může přímo souviset s vysvětlením, proč je cytosol (tedy tekutá složka cytoplazmy) bohatý na draslík a chudý na sodík. Na základě kvantově chemických a molekulově dynamických výpočtů jsme proto vytvořili soubor dat pro iontové párování s Hofmeisterovou řadou aniontů (Obr. 2), které dobře korelují jak s experimentem, tak s výše zmíněným empirickým pravidlem.<sup>8</sup> Tato data nám v posledu dovolila vytvořit kvantitativní model iontového párování, ukazující energetickou nevýhodnost překryvu hydratačních obalů při párování iontů o výrazně nestejně velikosti.<sup>9</sup> V poslední době se soustřeďujeme na složitější případy divalentních iontů, jako je síran, uhličitan nebo vápník, kde typicky dochází k velmi silnému iontovému párování.<sup>10, 11</sup>

Během studia iontového párování ve vodě jsme také narazili na kuriózní fenomén vytváření párů mezi dvěma ionty stejné polaroty. Konkrétně jsme zjistili, že guanidiniové kationty ( $C(NH_2)_3^+$ ) mají ve vodě schopnost „oklamat“ Coulombův zákon a vytvářet kontaktní iontový pár. V tomto páru je elektrostatická repulze překonána kombinací kvadrupolárních, disperzních a kavitačních interakcí.

Jako další krok směrem k biologicky relevantním systémům jsme charakterizovali pomocí molekulové dynamiky afinity halidových aniontů k nabitým postraním řetězcům lysinu, argininu a (protonovaného) histidinu.<sup>12</sup> Ve všech

případech interagují menší halidy (fluorid, chlorid) s postranními řetězci silněji než větší halidy (bromid, iodid), které ale zase vykazují interakce s nepolárními skupinami (viz níže). Předpovědi ze simulací jsme potvrdili pomocí měření příslušných roztoků založeném na neutronovém rozptylu.<sup>13</sup> Pro guanidiniovou skupinu v postranním řetězci argininu jsme pomocí simulací a experimentu potvrdili obdobné párování iontů stejné polariry jako dříve pro pár guanidiniových kationtů.<sup>14</sup> Nakonec jsme ukázali, že pro interakce iontů s peptidovou vazbou na páteři peptidů a bílkovin platí jiná pravidla než pro postraní řetězce, řazení iontů do Hofmeisterovy řady proto může být v těchto dvou případech rozdílné.<sup>15-17</sup>

V průměru 40 % povrchu bílkoviny je tvořeno nepolárními skupinami. Proto jsme se také věnovali studiu interakcí iontů s těmito hydrofóbními oblastmi. Ukázali jsme, že byť klasici tvrdí opak,<sup>18</sup> některé inorganické ionty, zvlášt' ty velké a polární, se mohou vyskytovat na hydrofóbních površích.<sup>19</sup> Mezi biologicky relevantními kationty je asi nejzajímavější guanidinium, které se vyskytuje paralelně orientované s vodním povrchem.<sup>20</sup> Skutečnost, že anionty jako iodid nebo thiokyanát, se objevují na vodích površích byla potvrzena experimentálně a je dnes široce akceptována.<sup>21</sup> Stále ale ještě přetrvává kontroverze, týkající se povrchového chování inherentních iontů vody, tedy hydroxoniového kationtu a hydroxidového aniontu. Většina fyzikálních chemiků se dnes shodne, že ten první je mírně přitahován k vodnímu povrchu, zatímco ten druhý je z něj lehce odpuzován. Řada koloidních chemiků se ovšem domnívá, že často pozorovaný záporný náboj na povrchu vody lze vysvětlit velmi silnou povrchovou adsorpcí OH<sup>-</sup>. S experimentálními spolupracovníky jsme tuto představu zpochybnili<sup>19</sup> a navrhli alternativní vysvětlení pro povrchový náboj vody.<sup>22</sup> Vrátime-li se zpět k hydrofóbním povrchům bílkovin, tak se nám podařilo ukázat, že s velkými inorganickými anionty nejsilněji interagují skupiny blízko

heteroatomům (jako  $C_{\alpha}$  uhlík na peptidové páteři), které jsou díky přenosu náboje na heteroatom slabě kladně nabitě.<sup>16</sup>

Cílem našeho snažení je nejen porozumět jak ionty interagují s bílkovinami, ale také jak to ovlivňuje jejich chování jako je například precipitace z roztoku, denaturace, či enzymová aktivita. Pomocí zhrubených (angl. coarse-grained) Monte Carlo simulací jsme tak odhalili mechanismus, způsobující otočení Hofmeisterovy vysolovací řady pomocí změny pH.<sup>23</sup> Podobně jsme byli schopni pomocí simulací molekulové dynamiky objasnit experimentálně pozorovanou závislost povrchové afinity beta-amyloidu na pH.<sup>24</sup> Následně jsme kombinací simulací a CD spektroskopie detailně zjistili, jak různé ionty denaturují malé modelové peptidy – alfa-helikální alahel a hydrofóbní „tryptofanový zip“.<sup>25</sup> Zatímco hydrofóbně stabilizovaný peptid je denaturován jak tetrapropylamonnými ionty tak guanidiniem, jen ten druhý je schopen rozbalit peptidovou  $\alpha$ -šroubovici. Přitom aktivitu guanidinia lze snížit přidáním silně párujících síranových iontů, které kationty „vyloví“ z roztoku. Díky těmto modelovým studiím jsme také mohli lépe porozumět mechanismu denaturace nejmenší „samobalící“ bílkoviny, tryptofanové klece, pomocí guanidinia nebo močoviny.<sup>26</sup> Naše výsledky ukázaly zajímavou skutečnost: přestože guanidinium a močovina interagují s bílkovinami každý jinak, proces rozbalování bílkoviny při denaturaci je v obou případech velmi podobný.

Studie na modelových peptidech nám dodaly důvěru pustit se do studia vlivu iontů v roztoku na aktivitu enzymů. Jako modelový příklad<sup>27</sup> jsme zvolili (jak jinak na UOCHB) HIV proteázu a vliv sodných či draselných iontů na její aktivitu (viz Obr. 2). Pomocí simulací spolu s biochemickými a bioinformatickými eseji jsme dokázali vysvětlit nižší aktivitu tohoto enzymu v sodných solích ve srovnání s stejnými koncentracemi draselných solí. Sodík totiž dokáže lépe interagovat

s aspartáty při „vchodu“ do aktivního místa než draslík, což vede ke snížení afinity substrátu k aktivnímu místu enzymu.

### **3. Modelování buněčných membrán**

Simulace molekulové dynamiky otevírají možnost popisovat a ovlivňovat membránové systémy na atomární úrovni. V našich studiích jsme se soustředili na vliv iontů a oxidace fosfolipidů na biofyzikální vlastnosti membrán, jako například mobilita a hustota lipidů a jejich stupeň hydratace. Tyto parametry ovlivňují klíčové vlastnosti membrán, zejména jejich integritu a naopak tvorbu pórů. Simulace pak dávají detailní představu o tom, jak přesně jednoduché ionty (alkalické kationty či halidové anionty), jakož i oxidované fosfolipidy mění charakter lipidové dvojvrstvy.

Experimentální metody nedávají příliš detailní představu o atomární struktuře rozhraní mezi lipidovou dvojvrstvou a vodným roztokem. To může být problém, neboť mnoho procesů, jako balení membránových bílkovin a adsorpce signálních molekul, se odehrává v této oblasti. Na úrovni fosfolipidových hlaviček také dochází k interakcím s ionty. Tato oblast je charakterizována velkým gradientem všech důležitých fyzikálně chemických parametrů, čímž vzniká komplexní prostředí, které může být ovlivňováno jak konkrátním složením lipidové dvojvrstvy, tak složením vodné fáze. Obrázek je dále komplikován dynamickým charakterem membrány, jejíž komponenty se pohybují zejména v laterálním směru a mohou i vytvářet mikrodomény (rafty), které pak i ovlivňují přiléhající vodnou fázi.<sup>28</sup> Kombinací simulací molekulové dynamiky a fluorescenční spektroskopie<sup>29</sup> jsme získali nástroj ke studiu interakcí vodných iontů s lipidovou dvojvrstvou. V rámci výpočtů bylo nejprve třeba vyvinout spolehlivou metodologii,<sup>30</sup> založenou na předcházejících studiích,<sup>31</sup> kterou jsme pak mohli aplikovat<sup>32</sup> na realistický model membrány červených krvinek

(viz Obr. 3). Ukázali jsme, že vazebnými místy pro malé kationty jsou fosfátové a karbonylové skupiny fosfolipidů a že sodík interaguje s hlavičkami lipidů silněji než draslík. Anioty se také chovají specificky, přičemž velké polarizovatelné ionty jako iodid mohou penetrovat hluboko do lipidické dvojvrstvy. Výsledky našich simulací, potvrzené fluorescenční spektroskopií, nám umožnily formulovat základní pravidla pro interakce iontů s membránou.<sup>32</sup>

Oxidace fosfolipidů je důležitá jak fyziologicky, tak v patologických situacích jako je ateroskleróza, záněty, rakovina, cukrovka a Alzheimerova choroba.<sup>33</sup> Bohužel ale zatím chybí konsistentní pohled na příčinné vztahy u dějů zahrnujících oxidaci lipidů, neboť dostatečně neznáme příslušné buňčné a molekulové mechanismy. Z těchto důvodů se snažíme výpočetně charakterizovat a kvantifikovat vliv oxidace na stukturní parametry modelových lipidických dvojvrstev a buněčných membrán v přímé návaznosti na fluorescenční spektroskopii analogických systémů. Na molekulové úrovni způsobuje oxidace lipidů neobvyklé změny. Oxidace vytváří polární skupiny v původně hydrofóbní části membrány, což dramaticky mění její biofyzikální vlastnosti. Navíc oxidací vznikají reaktivní sloučeniny, které mohou vytvářet chemické vazby k okolním biomolekulám. Výsledné struktury jsou tak komplexní jak po fyzikální, tak po biochemické stránce.

Pomocí molekulové dynamiky jsme tak charakterizovali lokální i globální změny v membránách a lipidických monovrstvách způsobené různou mírou oxidace fosfolipidů. Při fyziologicky relevantních stupních oxidace do cca 10 % jsou změny převážně lokálního charakteru a vedou k reorientaci oxidovaných acylových řetězců směrem k hydrofilním hlavičkám lipidů, či přímo do vodné fáze.<sup>34</sup> V důsledku toho se také mění laterální mobilita lipidů a hydratace membrány. Při vyšších stupních oxidace se začíná narušovat globální integrita membrány a vznikají vodní póry.<sup>35</sup>



Nejdůležitějším zjištěním bylo, že oxidace lipidů snižuje bariéru pro přechod fosfatidylserinu z vnitřní na vnější stranu membrány, což je kritický krok v rané fázi apoptózy (řízené buněčné smrti).<sup>36</sup>

#### **4. Radiační poškození DNA**

V rámci studia přímého radiačního poškození DNA ionizujícím zářením je zcela zásadní znát ionizační potenciály DNA a jejích komponent.<sup>37</sup> Tyto hodnoty byly známy z experimentů a výpočtů pouze pro plynnou fázi,<sup>38</sup> avšak biologicky relevantní procesy probíhají ve vodných roztocích. Díky nové metodě, kombinující fotoelektronovou spektroskopii a kapalinové mikrotrysky,<sup>39</sup> začaly být ionizační potenciály v roztocích experimentálně dostupné. Paralelně s vývojem těchto experimentálních technik jsme vyvinuli metodu k výpočtu ionizačních potenciálů komponent DNA v roztoku, založenou na ab initio výpočtech používajících model nerovnovážné solvatace v polarizovatelném kontinuu. Přitom se ale ukazuje, že nepřímé mechanismy poškození DNA ionizací ve vodném okolí nukleové kyseliny jsou biologicky významnější než přímé poškození jednoduše proto, že v těle máme dramaticky více vody než DNA.<sup>5</sup> Z tohoto důvodu jsme se také zaměřili na studium základních fyzikálních a chemických mechanismů ionizace vody a vodných roztoků. Fotoionizace vody vede k vytvoření pozitivně nabitě „díry“ a elektronu. Je-li energie ionizujícího záření vysoko nad nejnižším ionizačním potenciálem roztoku, dochází k lokalizaci vznikajícího solvatovaného elektronu daleko od kationtové díry a oba tyto procesy lze proto studovat separátně. V tomto duchu jsme proto mohli studovat nezávisle kationtovou díru a solvatovaný elektron, které oba vznikají po fotoionizaci vody.

Pro studium fotoionizace molekul a iontů rozpuštěných ve vodě jsme vyvinuli jednoduchou ale robustní výpočetní metodiku výpočtu ionačních potenciálů. Používáme přitom model nerovnovážné kontinuální solvatace, případně kombinovaný s mikrosolvatací malým množstvím explicitních molekul vody v přímém okolí rozpuštěné látky. Základní elektronový stav systému před a po ionizaci je popsán pomocí Moller-Plessetovy poruchové teorie druhého řádu, zatímco k výpočtu vyšších ionizačních stavů používáme časově závislou teorii funkcionálu hustoty, aplikovanou na systém po ionizaci. Byť jsme se soustředili především na ionizaci komponent DNA (jednotlivých bazí, nukleosidů a nukleotidů), náš přístup je poměrně obecný a umožnil nám popsat také ionizaci dalších molekul a iontů ve vodě.<sup>40</sup> Pro všechny studované systémy jsme získali velmi dobrou shodu ve vertikálních ionizačních energiích s fotoelektronovou spektroskopií.<sup>41, 42</sup> Hlavním závěrem, jenž vyplývá z našich výpočtů, je zjištění, že efekt vodního okolí je dramatický a podílí se na něm velké prostorová oblast rozpouštědla; nemůže být proto modelován pouze mikrosolvatací. Zjistili jsme, že zatímco v plynné fázi je ionizační potenciál báze DNA silně ovlivněn přítomností cukro-fosfátové páteře, tento vliv v roztoku prakticky vymizí. To ukazuje na dramatickou schopnost vodního prostředí odstínit elektronické efekty přímého molekulového okolí báze v DNA.

Fotoionizaci vody ionizujícím zářením lze formálně zapsat jako  $\text{H}_2\text{O} + h\nu \rightarrow \text{H}_2\text{O}^+ + e^-$ . Co vlastně ale je  $\text{H}_2\text{O}^+$  hned po ionizaci? Je tento radikálový kation zpočátku delokalizován, či částečně nebo plně lokalizován? A pokud je zpočátku alespoň částečně delokalizován, jak dlouho trvá, než se kationtová díra lokalizuje na jedné molekule vody? To je důležité vědět, neboť pouze lokalizovaná díra může reagovat s okolní molekulou vody za vzniku hydroxoniového kationtu a OH radikálu. Právě OH radikál je přitom nejdůležitější chemická sloučenina podílející se na

nepřímém poškození DNA. Pomocí simulací ab initio molekulové dynamiky v přímé spojitosti se spektroskopickými experimenty jsme dokázali tyto otázky zodpovědět.<sup>43</sup> Zjistili jsme, že čerstvě vytvořená kationtová díra je částečně delokalizovaná. Během několika desítek femtosekund se však tato díra lokalizuje a poté prakticky okamžitě reaguje se sousední molekulou vody za vzniku OH radikálu. Lokalizace spinu se tak ukazuje být limitujícím faktorem při tomto klíčovém procesu při radiolýze vody. Stojí za to podotknout, že ve srovnání s kationtovou dírou ve vodě působí OH radikál (který je jednou z nejreaktivnějších chemických sloučenin) téměř jako stabilní sloučenina. Vysoká reaktivita kationtové díry je daná energetickou nevýhodností lokalizace jak náboje tak spinu na jediné molekule vody. Naše práce tak odhaluje molekulové detaily spojené se vznikem nejdůležitějšího radikálu podílejícího se na poškození DNA.

Pomalé elektrony ve vodě mají pouze sekundární význam pro poškození DNA (ani ne tak proto, že by byly málo reaktivní vůči DNA, jako spíše proto, že jsou příliš reaktivní a než dosáhnou DNA zreagují s něčím jiným), přesto je jejich studiu věnována značná pozornost.<sup>44</sup> To je částečně dané skutečností, že hydratovaný elektron je velmi zvláštní chemická entita (anion bez pozitivně nabitého jádra), a částečně proto, že jeho reaktivita může vést ke tvorbě vodíku, což je ze zřejmých důvodů velmi nežádoucí produkt v kapalném jaderném odpadu.<sup>45</sup> V naší skupině provádíme simulace ab initio molekulové dynamiky elektronu ve vodních klastrech a v objemu i na povrchu vody, což nám umožňuje odhalovat jeho strukturní, dynamické a chemické vlastnosti (viz Obr. 4). Naše první studie se soustředily na vytváření solvatovaného („mokrého“) elektronu přidáním elektronu k neutrálnímu vodnímu klastru.<sup>46</sup> Ukázali jsme, že v kapalném klastru dochází k lokalizaci a silnému vázání elektronu na časové škále jednotek pikosekund. Naproti tomu za velmi nízkých teplot,

typických pro klastrové experimenty, mohou dlouhodobě existovat metastabilní, slabě vázané stavy hydratovaného elektronu.<sup>47, 48</sup>

Ab initio molekulová dynamika také dovoluje studovat reaktivitu hydratovaného elektronu. Podařilo se nám takto modelovat zcela fundamentální reakci hydratovaného elektronu s protonem za vzniku vodíkového atomu ve vodě. V plynné fázi jde o nejjednodušší chemický proces, při kterém se uvolní velké množství energie (13,6 eV). Ve vodě je ale situace mnohem komplikovanější. Voda jako polární rozpouštědlo totiž nejen silně stabilizuje oba nabitě reaktanty, ale je přímo chemicky navázána na proton ve formě hydroxoniového katontu. V důsledku toho je reakce ve vodě jen mírně exothermická a má nezanedbatelnou reakční bariéru. Proto není tato reakce omezená difúzí, ale je pomalejší a navíc probíhá jako přenos protonu a ne elektronu, což jsme obojí ukázali<sup>49</sup> ve shodě se spektroskopickými měřeními.<sup>50</sup> Naše simulace navíc poskytují detailní obrázek,<sup>49</sup> jak vypadá reakční mechanismus, kde proton indukuje asymetrický tvar solvatovaného elektronu, což snižuje desolvatační bariéru. Během reakce se protom rychle pohybuje po řetízku vodních molekul do středu spinové hustoty solvatovaného elektronu, kde spolu s ním vytváří vodíkový atom.

## **5. Závěr**

Cílem tohoto krátkého článku bylo představit naše aktivity směřující k lepšímu pochopení působení rozpuštěných iontů solí a elektronů na biologické procesy jako je vysolování a vsolování bílkovin, denaturace bílkovin a enzymová aktivita, membránové procesy, radiační poškozování DNA a podobně. Náš přístup je založen na kombinaci kvantově chemických a molekulově dynamických výpočetních metod, používaných v těsném kontaktu s experimenty. Obrazně řečeno se snažíme porozumět

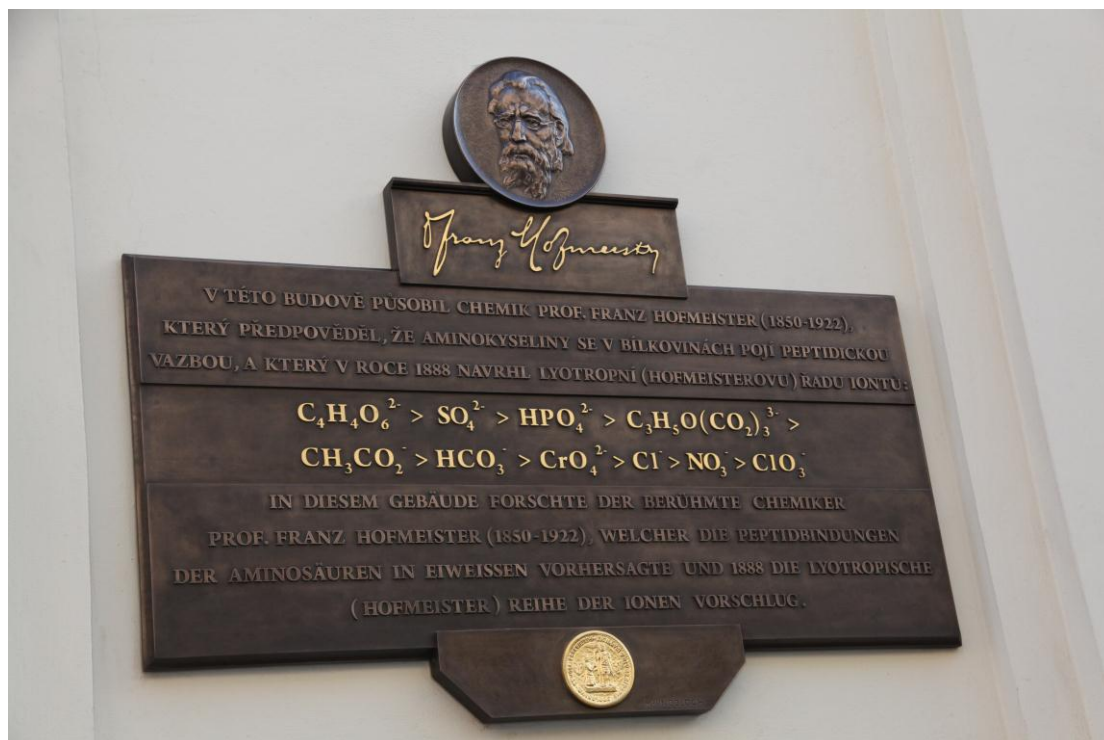
„moři“ v lidském těle, které obsahuje stejné soli (byť v jiných koncentracích) jako moře v době, kdy v něm před miliardami let vznikal život. Zakončíme proto poeticky citátem z knihy *Moře kolem nás* Ráchel Carsonové:<sup>51</sup> „Když se zvířata vydala z moře na suchou zem, nesly si s sebou trochu moře ve svých tělech. To je dědictví, které se předává dalším generacím a které i dnes spojuje suchozemská zvířata s jejich původem v dávném moři.“

*Autor děkuje za podporu GAČR (grant č. P208/12/G016) a AV ČR (cena Praemium Academie).*

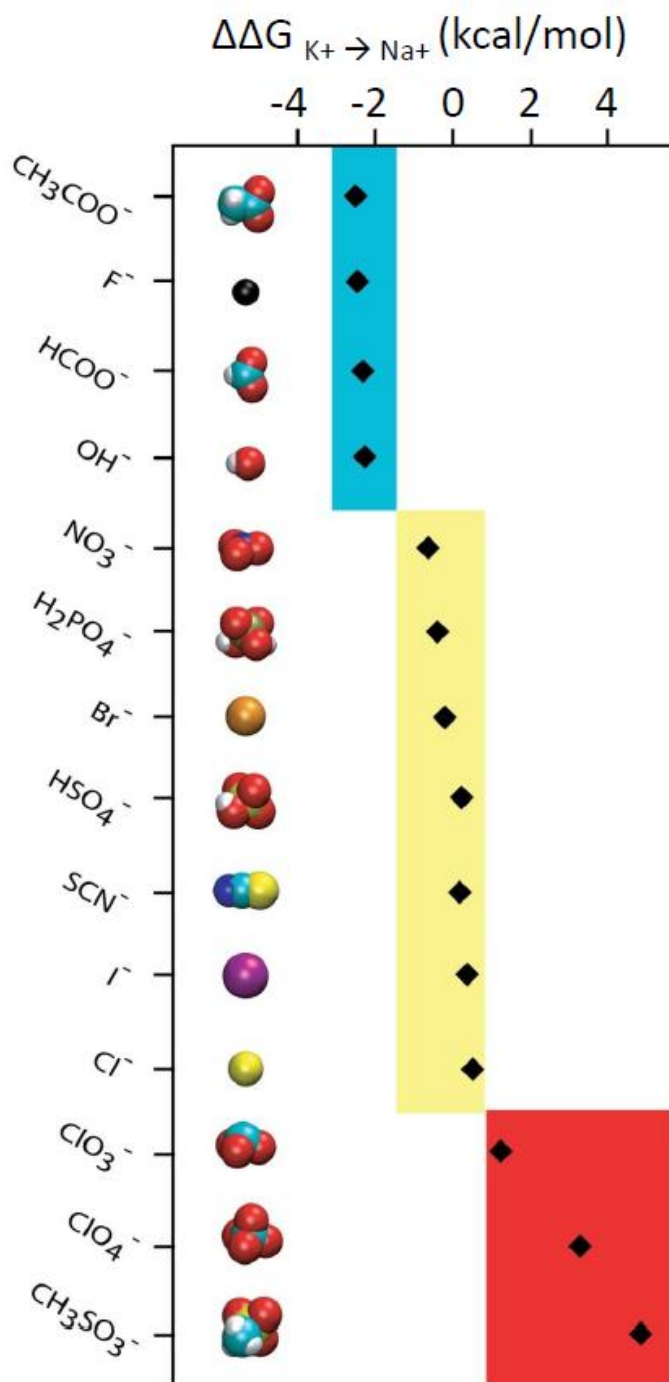
**Pavel Jungwirth** (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Molecules in motion: Computer simulations of biochemical and biophysical processes**

The aim of this short article is to present our research activities aimed at better understanding of the effects of salt ions and electrons on biological processes (salting out/in of proteins, protein denaturation, enzymatic activity, processes in biological membranes, radiational damage to DNA, etc.) using molecular simulations in close contact with experiment.

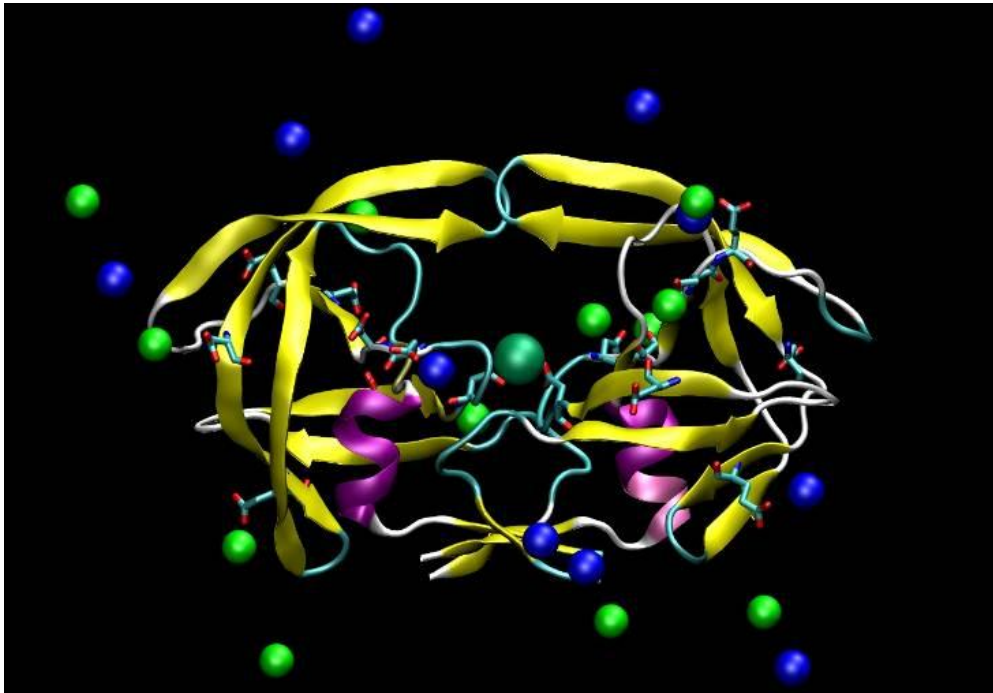
**Obr. 1 (barevně):** Původní Hofmeisterova řada iontů, tak jak je zachycena na pamětní desce Prof. Franze Hofmeistera na budově lékařské fakulty UK v Praze.



**Obr. 2 (barevně):** Změny volné energie související s nahrazením draslíku sodíkem v kontaktním iontovém páru s Hofmeisterovou řadou aniontů. Data vyznačená modře (popř. červeně) reprezentují anionty preferující sodík (popř. draslík); žlutě pak jsou anionty bez výraznější preference.

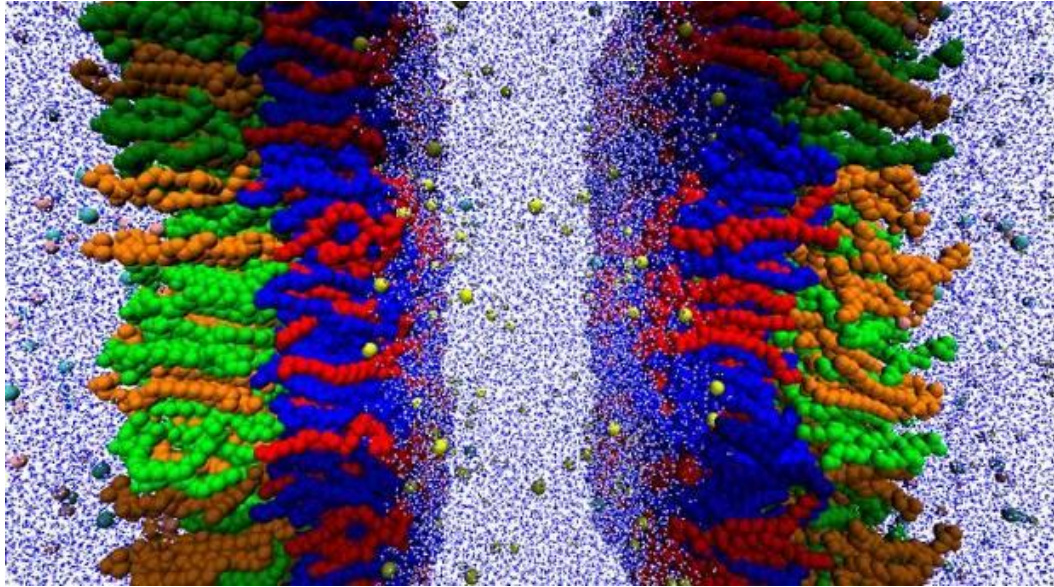


**Obr. 3 (barevně):** Reprezentativní obrázek z molekulově dynamické simulace ukazující sodíkové ionty (zeleně) a draslíkové ionty (modře) okolo HIV proteázy (vodní molekuly nejsou pro přehlednost zobrazeny).

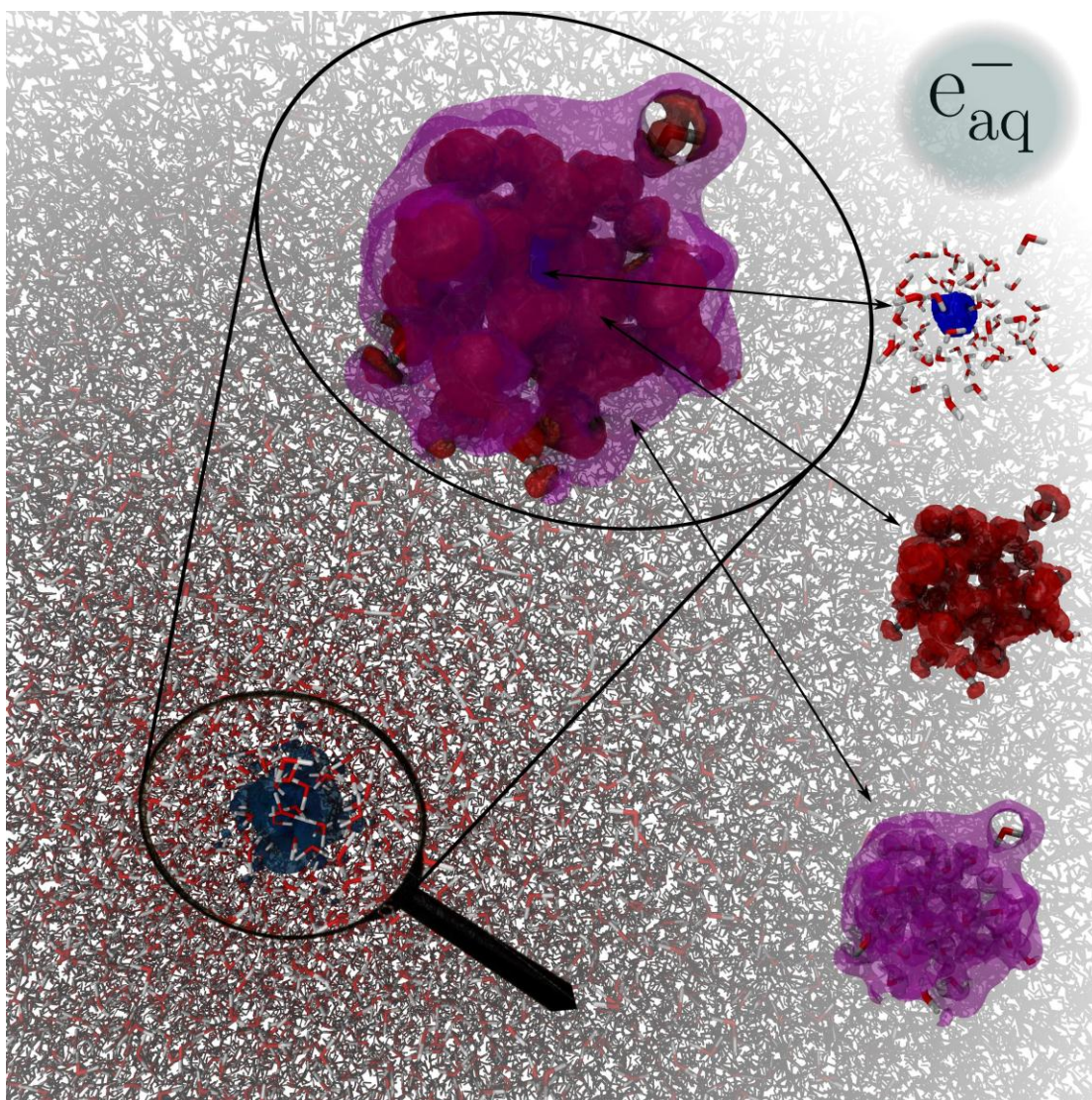




**Obr. 4 (barevně):** Dvojice smíšených fosfolipidových dvojvrstev dovolující simulovat prostředí uvnitř buňky (bohaté na draslík) i vně buňky (bohaté na sodík).



**Obr. 5 (barevně):** Struktura hydratovaného elektronu z naší simulace ab initio molekulové dynamiky. Pod „lupou“ vidíme zvětšeně jeho detailní strukturu, která je tvořena třemi příspěvky. Největší část elektronové hustoty sídlí v kavitě vytvořené ve vodě (modře). Další dva příspěvky tvoří překryv s okolními molekulami vody (červeně) a difúzní část (fialově). Elektron ve vodě tak nesídlí pouze v kavitě nebo není pouze difúzně delokalizován, jak se dosud diskutovalo v literatuře, ale má komplexní strukturu, která zahrnuje oba tyto motivy.





## Literatura:

1. Hofmeister, F., Zur Lehre von der Wirkung der Salze. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. (Leipzig)* **1888**, 24, 247-260.
2. Kunz, W.; Henle, J.; Ninham, B. W., 'Zur Lehre von der Wirkung der Salze' (about the science of the effect of salts): Franz Hofmeister's historical papers. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2004**, 9, (1-2), 19-37.
3. Kunz, W.; Lo Nostro, P.; Ninham, B. W., The present state of affairs with Hofmeister effects. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2004**, 9, (1-2), 1-18.
4. Zhang, Y. J.; Cremer, P. S., Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. *Current Opinion in Chemical Biology* **2006**, 10, (6), 658-663.
5. von Sonntag, C., Free-Radical-Induced DNA Damage as Approached by Quantum-Mechanical and Monte Carlo Calculations: An Overview from the Standpoint of an Experimentalist. In *Advances in Quantum Chemistry*, 2007; 52, 5-20.
6. Collins, K. D.; Neilson, G. W.; Enderby, J. E., Ions in water: Characterizing the forces that control chemical processes and biological structure. *Biophysical Chemistry* **2007**, 128, (2-3), 95-104.
7. Vrbka, L.; Vondrasek, J.; Jagoda-Cwiklik, B.; Vacha, R.; Jungwirth, P., Quantification and rationalization of the higher affinity of sodium over potassium to protein surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, 103, (42), 15440-15444.
8. Jagoda-Cwiklik, B.; Vacha, R.; Lund, M.; Srebro, M.; Jungwirth, P., Ion pairing as a possible clue for discriminating between sodium and potassium in biological and other complex environments. *Journal of Physical Chemistry B* **2007**, 111, 14077-14079.
9. Lund, M.; Jagoda-Cwiklik, B.; Woodward, C. E.; Vacha, R.; Jungwirth, P., Dielectric Interpretation of Specificity of Ion Pairing in Water. *Journal of Physical Chemistry Letters* **2010**, 1, (1), 300-303.
10. Wernersson, E.; Jungwirth, P., Effect of Water Polarizability on the Properties of Solutions of Polyvalent Ions: Simulations of Aqueous Sodium Sulfate with Different Force Fields. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2010**, 6, (10), 3233-3240.
11. Vazdar, M.; Jungwirth, P.; Mason, P. E., Aqueous Guanidinium-Carbonate Interactions by Molecular Dynamics and Neutron Scattering: Relevance to Ion-Protein Interactions. *Journal of Physical Chemistry B* **2013**, 117, (6), 1844-1848.
12. Heyda, J.; Hrobarik, T.; Jungwirth, P., Ion-Specific Interactions between Halides and Basic Amino Acids in Water. *Journal of Physical Chemistry A* **2009**, 113, (10), 1969-1975.
13. Mason, P. E.; Heyda, J.; Fischer, H. E.; Jungwirth, P., Specific Interactions of Ammonium Functionalities in Amino Acids with Aqueous Fluoride and Iodide. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, (43), 13853-13860.
14. Kubickova, A.; Krizek, T.; Coufal, P.; Wernersson, E.; Heyda, J.; Jungwirth, P., Guanidinium Cations Pair with Positively Charged Arginine Side Chains in Water. *Journal of Physical Chemistry Letters* **2011**, 2, (12), 1387-1394.
15. Heyda, J.; Vincent, J. C.; Tobias, D. J.; Dzubiella, J.; Jungwirth, P., Ion Specificity at the Peptide Bond: Molecular Dynamics Simulations of N-Methylacetamide in Aqueous Salt Solutions. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, (2), 1213-1220.
16. Rembert, K. B.; Paterova, J.; Heyda, J.; Hilty, C.; Jungwirth, P.; Cremer, P. S., Molecular Mechanisms of Ion-Specific Effects on Proteins. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, 134, (24), 10039-10046.
17. Paterova, J.; Rembert, K. B.; Heyda, J.; Kurra, Y.; Okur, H. I.; Liu, W. R.; Hilty, C.; Cremer, P. S.; Jungwirth, P., Reversal of the Hofmeister Series: Specific Ion Effects on Peptides. *Journal of Physical Chemistry B* **2013**, 117, (27), 8150-8158.
18. Onsager, L.; Samaras, N. N. T., The surface tension of Debye-Huckel electrolytes. *Journal of Chemical Physics* **1934**, 2, 528-536.
19. Jungwirth, P.; Winter, B., Ions at aqueous interfaces: From water surface to hydrated proteins. *Annual Review of Physical Chemistry* **2008**, 59, 343-366.
20. Wernersson, E.; Heyda, J.; Vazdar, M.; Lund, M.; Mason, P. E.; Jungwirth, P., Orientational Dependence of the Affinity of Guanidinium Ions to the Water Surface. *Journal of Physical Chemistry B* **2011**, 115, (43), 12521-12526.
21. Jungwirth, P.; Tobias, D. J., Specific ion effects at the air/water interface. *Chemical Reviews* **2006**, 106, (4), 1259-1281.
22. Vacha, R.; Marsalek, O.; Willard, A. P.; Bonthuis, D. J.; Netz, R. R.; Jungwirth, P., Charge Transfer between Water Molecules As the Possible Origin of the Observed Charging at the Surface of Pure Water. *Journal of Physical Chemistry Letters* **2012**, 3, (1), 107-111.

23. Lund, M.; Jungwirth, P., Patchy proteins, anions and the Hofmeister series. *Journal of Physics-Condensed Matter* **2008**, 20, (49), 11582.
24. Miller, A. E.; Petersen, P. B.; Hollars, C. W.; Saykally, R. J.; Heyda, J.; Jungwirth, P., Behavior of beta-Amyloid 1-16 at the Air-Water Interface at Varying pH by Nonlinear Spectroscopy and Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Physical Chemistry A* **2011**, 115, (23), 5873-5880.
25. Dempsey, C. E.; Mason, P. E.; Jungwirth, P., Complex Ion Effects on Polypeptide Conformational Stability: Chloride and Sulfate Salts of Guanidinium and Tetrapropylammonium. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, 133, (19), 7300-7303.
26. Heyda, J.; Kozisek, M.; Bednarova, L.; Thompson, G.; Konvalinka, J.; Vondrasek, J.; Jungwirth, P., Urea and Guanidinium Induced Denaturation of a Trp-Cage Miniprotein. *Journal of Physical Chemistry B* **2011**, 115, (28), 8910-8924.
27. Heyda, J.; Pokorna, J.; Vrbka, L.; Vacha, R.; Jagoda-Cwiklik, B.; Konvalinka, J.; Jungwirth, P.; Vondrasek, J., Ion specific effects of sodium and potassium on the catalytic activity of HIV-1 protease. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2009**, 11, (35), 7599-7604.
28. Marrink, S. J.; Mark, A. E., Effect of undulations on surface tension in simulated bilayers. *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, (26), 6122-6127.
29. Jurkiewicz, P.; Cwiklik, L.; Jungwirth, P.; Hof, M., Lipid hydration and mobility: An interplay between fluorescence solvent relaxation experiments and molecular dynamics simulations. *Biochimie* **2012**, 94, (1), 26-32.
30. Siu, S. W. I.; Vacha, R.; Jungwirth, P.; Bockmann, R. A., Biomolecular simulations of membranes: Physical properties from different force fields - art. no. 125103. *Journal of Chemical Physics* **2008**, 128, (12), 25103-25103.
31. Bockmann, R. A.; Hac, A.; Heimbürg, T.; Grubmüller, H., Effect of sodium chloride on a lipid bilayer. *Biophysical Journal* **2003**, 85, (3), 1647-1655.
32. Vacha, R.; Jurkiewicz, P.; Petrov, M.; Berkowitz, M. L.; Bockmann, R. A.; Barucha-Kraszewska, J.; Hof, M.; Jungwirth, P., Mechanism of Interaction of Monovalent Ions with Phosphatidylcholine Lipid Membranes. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, (29), 9504-9509.
33. Fruhwirth, G. O.; Loidl, A.; Hermetter, A., Oxidized phospholipids: From molecular properties to disease. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease* **2007**, 1772, (7), 718-736.
34. Beranova, L.; Cwiklik, L.; Jurkiewicz, P.; Hof, M.; Jungwirth, P., Oxidation Changes Physical Properties of Phospholipid Bilayers: Fluorescence Spectroscopy and Molecular Simulations. *Langmuir* **2010**, 26, (9), 6140-6144.
35. Lis, M.; Wizert, A.; Przybylo, M.; Langner, M.; Swiatek, J.; Jungwirth, P.; Cwiklik, L., The effect of lipid oxidation on the water permeability of phospholipids bilayers. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2011**, 13, (39), 17555-17563.
36. Volinsky, R.; Cwiklik, L.; Jurkiewicz, P.; Hof, M.; Jungwirth, P.; Kinnunen, P. K. J., Oxidized Phosphatidylcholines Facilitate Phospholipid Flip-Flop in Liposomes. *Biophysical Journal* **2011**, 101, (6), 1376-1384.
37. Turecek, F.; John, R. S. a. E. B., Computational Studies of Radicals Relevant to Nucleic Acid Damage. In *Advances in Quantum Chemistry*, Academic Press: 2007; Vol. Volume 52, pp 89-120.
38. Crespo-Hernandez, C. E.; Arce, R.; Ishikawa, Y.; Gorb, L.; Leszczynski, J.; Close, D. M., Ab Initio Ionization Energy Thresholds of DNA and RNA Bases in Gas Phase and in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. A* **2004**, 108, 6373-6377.
39. Winter, B.; Faubel, M., Photoemission from liquid aqueous solutions. *Chemical Reviews* **2006**, 106, (4), 1176-1211.
40. Jagoda-Cwiklik, B.; Slavicek, P.; Nolting, D.; Winter, B.; Jungwirth, P., Ionization of aqueous cations: Photoelectron spectroscopy and ab initio calculations of protonated imidazole. *Journal of Physical Chemistry B* **2008**, 112, (25), 7355-7358.
41. Slavicek, P.; Winter, B.; Faubel, M.; Bradforth, S. E.; Jungwirth, P., Ionization Energies of Aqueous Nucleic Acids: Photoelectron Spectroscopy of Pyrimidine Nucleosides and ab Initio Calculations. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131, (18), 6460-6467.
42. Pluharova, E.; Jungwirth, P.; Bradforth, S. E.; Slavicek, P., Ionization of Purine Tautomers in Nucleobases, Nucleosides, and Nucleotides: From the Gas Phase to the Aqueous Environment. *Journal of Physical Chemistry B* **2011**, 115, (5), 1294-1305.
43. Marsalek, O.; Elles, C. G.; Pieniazek, P. A.; Pluharova, E.; VandeVondele, J.; Bradforth, S. E.; Jungwirth, P., Chasing charge localization and chemical reactivity following photoionization in liquid water. *Journal of Chemical Physics* **2011**, 135, (22).

44. Kambhampati, P.; Son, D. H.; Kee, T. W.; Barbara, P. F., Solvation dynamics of the hydrated electron depends on its initial degree of electron delocalization. *Journal of Physical Chemistry A* **2002**, 106, (10), 2374-2378.
45. Garrett, B. C.; Dixon, D. A.; Camaioni, D. M.; Chipman, D. M.; Johnson, M. A.; Jonah, C. D.; Kimmel, G. A.; Miller, J. H.; Rescigno, T. N.; Rossky, P. J.; Xantheas, S. S.; Colson, S. D.; Laufer, A. H.; Ray, D.; Barbara, P. F.; Bartels, D. M.; Becker, K. H.; Bowen, H.; Bradforth, S. E.; Carmichael, I.; Coe, J. V.; Corrales, L. R.; Cowin, J. P.; Dupuis, M.; Eisenthal, K. B.; Franz, J. A.; Gutowski, M. S.; Jordan, K. D.; Kay, B. D.; LaVerne, J. A.; Lyman, S. V.; Madey, T. E.; McCurdy, C. W.; Meisel, D.; Mukamel, S.; Nilsson, A. R.; Orlando, T. M.; Petrik, N. G.; Pimblott, S. M.; Rustad, J. R.; Schenter, G. K.; Singer, S. J.; Tokmakoff, A.; Wang, L. S.; Wittig, C.; Zwiier, T. S., Role of water in electron-initiated processes and radical chemistry: Issues and scientific advances. *Chemical Reviews* **2005**, 105, (1), 355-389.
46. Marsalek, O.; Uhlig, F.; Frigato, T.; Schmidt, B.; Jungwirth, P., Dynamics of Electron Localization in Warm versus Cold Water Clusters. *Physical Review Letters* **2010**, 105, (4), 043002.
47. Marsalek, O.; Uhlig, F.; P., J., Electrons in Cold Water Clusters: An ab Initio Molecular Dynamics Study of Localization and Metastable States. *Journal of Physical Chemistry* **2010**, 114, 20489–20495.
48. Verlet, J. R. R.; Bragg, A. E.; Kammrath, A.; Cheshnovsky, O.; Neumark, D. M., Observation of large water-cluster anions with surface-bound excess electrons. *Science* **2005**, 307, (5706), 93-96.
49. Marsalek, O.; Frigato, T.; VandeVondele, J.; Bradforth, S. E.; Schmidt, B.; Schutte, C.; Jungwirth, P., Hydrogen Forms in Water by Proton Transfer to a Distorted Electron. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, (2), 915-920.
50. Han, P.; Bartels, D. M., H/D Isotope Effects in Water Radiolysis .4. the Mechanism of (H)Aq- $\leftrightarrow$ (e-)Aq Interconversion. *Journal of Physical Chemistry* **1992**, 96, (12), 4899-4906.
51. Carson, R., *The Sea Around Us*. Oxford University Press: Oxford, 1951.