

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

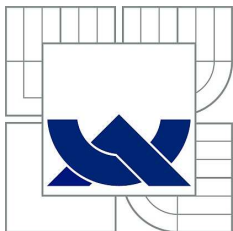
SVĚTLEM OVLÁDANÉ BIOMOLEKULY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

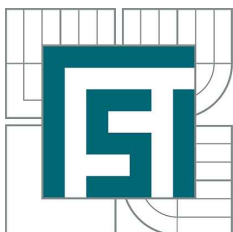
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

JAKUB PLANER

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

SVĚTLEM OVLÁDANÉ BIOMOLEKULY PHOTOCONTROLLED BIOMOLECULES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

JAKUB PLANER

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

RNDr. PETR KULHÁNEK, Ph.D.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství

Ústav fyzikálního inženýrství

Akademický rok: 2014/15

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

student(ka): Jakub Planer

který/která studuje v **bakalářském studijním programu**

obor: **Fyzikální inženýrství a nanotechnologie (3901R043)**

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č. 111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

Světlem ovládané biomolekuly

v anglickém jazyce:

Photocontrolled Biomolecules

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Deriváty azobenzenu se vyznačují možností přepínání pomocí světla mezi cis a trans izomery. Budou-li tyto sloučeniny zabudovány ve vhodných biomolekulách, můžeme světlem měnit jejich strukturu a tím i funkci celé biomolekuly. Student se seznámí s kvantově chemickými výpočty v programu Gaussian potřebnými pro popis derivátu azobenzenu a s modelováním biomolekul pomocí molekulární dynamiky v programu Amber. V práci bude také zmíněno, jak se dají použité výpočetní metody aplikovat na problémy řešené na ÚFI.

Cíle bakalářské práce:

Cílem studenta bude studovat možnosti využití derivátů azobenzenu na ovládání vlastností vybraných biomolekul pomocí světelného záření. Práce bude spočívat v aplikaci kvantově chemických výpočtů pro charakterizaci světlem indukované E/Z izomerizace derivátů azobenzenu. Vypočtené vlastnosti použije k vývoji nového silového pole, které použije spolu se silovými poli vhodnými pro popis biomolekul pro studium vlastností a dynamiky biomolekul funkcionalizovaných molekulami obsahující azobenzenový fragment. Student rovněž posoudí možnosti využití uvedených výpočetních metod pro simulaci interakce hrotu SPM s povrchy pevných látek.

Seznam odborné literatury:

[1] LEACH, R. Molecular modelling principles and applications. Vyd. 1. London: Prentice-Hall, 2001, 744 s. ISBN 05-823-8210-6.

[2] OTIS, François, Michèle AUGER a Normand VOYER. Exploiting Peptide Nanostructures

To Construct Functional Artificial Ion Channels. Accounts of Chemical Research. 2013-12-17, vol. 46, issue 12, s. 2934-2943. DOI: 10.1021/ar400044k. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar400044k>

[3] BLANCO-LOMAS, Marina, Subhas SAMANTA, Pedro J. CAMPOS, G. Andrew WOOLLEY a Diego SAMPEDRO. Reversible Photocontrol of Peptide Conformation with a Rhodopsin-like Photoswitch. Journal of the American Chemical Society. 2012-04-25, vol. 134, issue 16, s. 6960-6963. DOI: 10.1021/ja301868p. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja301868p>

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Petr Kulhánek, Ph.D.

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2014/15.

V Brně dne 24. 11. 2014

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Šikola, CSc.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Tato práce je zaměřena na molekulárně dynamické simulace umělého fotocitlivého iontového kanálu a AFM hrotu. Při sestavování modelu iontového kanálu byly použity DFT metody pro reparametrizaci silového pole GAFF popisující přemostěný azobenzen, který sloužil jako světlem ovládaný molekulární přepínač, a pomocí simulací jsme prokázali, že námi vyvinuté parametry vhodně popisují chování sestaveného modelu iontového kanálu v lipidové dvouvrstvě. Dále jsme sestavili model AFM hrotu a pomocí molekulární dynamiky pozorovali vznik vodního menisku mezi hrotem a podložkou z α -křemene. Přínosem této práce je soubor nových parametrů opravující silové pole GAFF pro správný popis přemostěného azobenzenu, ověření funkčnosti modelu navrhnutého iontového kanálu a vytvoření funkčního modelu AFM hrotu, na kterém je možno dále studovat vznik vodního menisku.

Summary

This work is focused on molecular dynamics simulations of artificial photosensitive ion channel and AFM probe. To assemble this ion channel, DFT methods were employed for reparametrization of the GAFF force field describing the bridged azobenzene, which was used as a light controlled molecular switch. We proved by molecular dynamics simulations that newly developed parameters correctly describe behavior of assembled model of ion channel in a lipid bilayer. We also constructed a model of AFM probe and observed formation of water meniscus between the AFM probe and surface, both made of α -quartz, by employing molecular dynamics simulations. A contribution of this work is the set of new parameters extending GAFF force field for description of the bridged azobenzene. We also verified functionality of ion channel model and model of AFM probe, which can be used for the further water meniscus studies.

Klíčová slova

Reparametrizace, molekulová mechanika, molekulární dynamika, DFT, iontový kanál, přemostěný azobenzen, AFM hrot, vodní meniskus

Keywords

Reparametrization, molecular mechanics, molecular dynamics, DFT, ion channel, bridged azobenzene, AFM probe, water meniscus

PLANER, J. *Světlem ovládané biomolekuly*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2015. 49 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Petr Kulháněk, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma „Světlem ovládané biomolekuly“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

Brno

.....
(podpis autora)

Na prvním místě bych rád poděkoval RNDr. Petrovi Kulhánkovi, Ph.D., za trpělivé vedení bakalářské práce a poskytnutí cenných rad při řešení mnoha problémů. Velký dík patří Ing. Miroslavu Bartošíkovi, Ph.D., za věcné diskuze ohledně simulací AFM hrotu. Dále děkuji Mgr. Tomáši Bouchalovi a Mgr. Ivovi Kabelkovi za pomoc při tvorbě obrázků zobrazujících simulované systémy. Děkuji za poskytnutí výpočetních zdrojů organizacemi Metacentrum v programu LM2010005 a CERIT-SC v programu CERIT Scientific Cloud v OP výzkum a vývoj pro inovace CZ.1.05/3.2.00/08.0144.

V neposlední řadě bych rád poděkoval svým rodičům za jejich trpělivost a podporu během celého studia.

Jakub Planer

Obsah

1	Úvod	2
2	Výpočetní metody	3
2.1	Molekulová mechanika	4
2.1.1	Silová pole AMBER	4
2.1.2	Parametrizace silového pole	6
2.2	Metody kvantové chemie	7
2.2.1	Ab initio metody	8
2.2.2	Teorie funkcionálu hustoty	10
2.3	Molekulární dynamika	14
2.3.1	Nastavení a start molekulárně dynamické simulace	14
3	Teorie	16
3.1	Iontový kanál	16
3.1.1	Umělé iontové kanály	16
3.1.2	Peptidový iontový kanál s crownetherovými kruhy	18
3.1.3	Ovládání iontového kanálu	19
3.2	Přemostěný azobenzen	19
3.3	Hrot AFM	21
3.3.1	Vodní meniskus v AFM	22
3.3.2	Struktura hrotu	24
4	Praktická část	25
4.1	Simulace iontového kanálu	25
4.1.1	Optimalizace izomerů přemostěného azobenzenu	26
4.1.2	Reparametrizace silového pole	27
4.1.3	Stavba iontového kanálu	28
4.1.4	Zabudování iontového kanálu do lipidové dvouvrstvy	30
4.1.5	Ekvilibrace membrány s iontovým kanálem	30
4.1.6	Produkční dynamika	32
4.2	Simulace AFM hrotu	34
4.2.1	Vytvoření struktury hrotu	35
4.2.2	Interakce hrotu s povrchem	37
4.2.3	Modelování vodního menisku	39
5	Závěr	42
6	Seznam použitých zkratek	48
7	Seznam příloh	49

1. Úvod

„The underlying physical laws necessary for the mathematical theory of a large part of physics and the whole of chemistry are thus completely known, and the difficulty is only that the exact application of these laws leads to equations much too complicated to be soluble.“

- Paul Adrien Maurice Dirac

Díky obrovskému pokroku v informačních technologiích se v poslední době dává na vzestup obor, který využívá poznatky z teoretické chemie k vývoji programů zkoumajících vlastnosti molekul - výpočetní chemie. V dnešní době jsou metody výpočetní chemie využívány například farmaceutickými firmami pro urychlení a zlevnění vývoje nových léků. Velké uplatnění našly v širokém okruhu vědeckých pracovišť díky možnosti porovnávat výsledky experimentu s výsledky počítačových simulací. Vzhledem k současnému trendu ve zvyšování výpočetního výkonu superpočítačů a zlepšování vědeckého softwaru lze předpokládat, že výpočetní chemie bude hrát stále důležitější roli jak ve výzkumném, tak i v komerčním prostředí.

Ve výpočetní chemii existují dva základní směry, pomocí kterých se počítají vlastnosti nejen atomů a molekul, ale i různých nanostruktur. První směr se opírá o kvantovou mechaniku, která poskytuje přesnější výsledky, ale je výpočetně velmi náročná. Druhý okruh metod vychází z klasické, Newtonovské, mechaniky. Její výpočetní náročnost je nesrovnatelně nižší, avšak za cenu snížené přesnosti výsledků v důsledku použití celé řady empirických vstupních parametrů.

Prvním úkolem této práce bylo sestavení modelu světlem ovládaného iontového kanálu. Iontové kanály jsou struktury zabudované v buněčné membráně, které mají za úkol přenášet přes tuto membránu různé ionty. Pokud bychom byli schopni ovládat tyto nanostruktury zvnějšku (světlem), mohly by mít potenciální využití ve vnášení vzruchů na synapse neuronů nebo jako protirakovinné léčivo. Pro splnění úkolu bylo potřeba skloubit oba popsané směry výpočetní chemie, tj. kvantově chemický a Newtonovský popis, pro sestavení modelu iontového kanálu a pomocí molekulárně dynamických simulací zhodnotit chování iontového kanálu zabudovaného v lipidové membráně. Tento projekt vznikl na podnět Dr. Vladimíra Pekaříka z výzkumné skupiny Buněčná a molekulární neurobiologie, Centrum neurověd, Středoevropského technologického institutu.

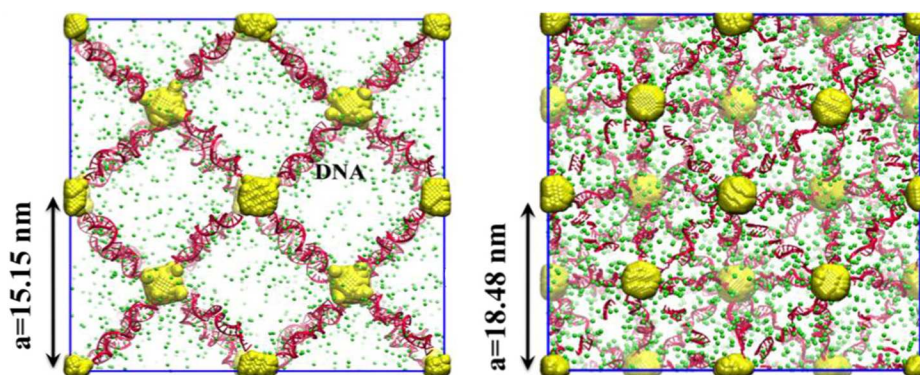
Ve druhém úkolu jsme se zabývali modelováním hrotu používaného v mikroskopii atomárních sil a simulací vodního menisku mezi hrotem a povrchem vzorku. Vodní meniskus zásadním způsobem ovlivňuje výsledky měření mikroskopu a je snahou vědců tomuto fenoménu co nejlépe porozumět. Navíc byly na konci minulého století objeveny metody přípravy nanostruktur, které využívají hrot i vzniklý vodní meniskus. V této části jsme vytvořili funkční model hrotu, na němž budeme moci v budoucnu studovat tuto důležitou interakci.

Členění předložené práce je následující. V první kapitole se budeme věnovat použitým výpočetním metodám a popíšeme principy, na kterých stojí. Druhá kapitola shrnuje známé vlastnosti jednotlivých komponent budovaného fotocitlivého iontového kanálu, jeho popis a vize funkčnosti. Závěrem kapitoly zmíníme pár slov o mikroskopii atomárních sil, tvorbě vodního menisku a jeho využití. Třetí kapitola shrnuje dosažené výsledky a jejich diskuzi.

2. Výpočetní metody

Metody výpočetní chemie lze rozdělit na dva směry, které se k počítání vlastností studovaných systémů staví výrazně odlišným způsobem - metody kvantové chemie a molekulovou mechaniku.

Molekulová mechanika spolu s molekulární dynamikou používají klasickou (Newtonovskou) mechaniku. Na jednotlivé atomy pohlíží jako na hmotné body, které nesou elektrický náboj. Základ molekulové mechaniky tvoří silové pole, což je empirický vztah, který převádí rozložení atomů v prostoru na potenciální energii systému. Díky jednoduchému přístupu můžeme tento popis použít k modelování velmi rozsáhlých systémů. Touto metodou byly například studovány nanočástice zlata spojené vlákny DNA, jak zachycuje obrázek 2.1, kde bylo nutné počítat s více než dvěma miliony atomů. Mezi hlavní nevýhody molekulové mechaniky patří velký počet parametrů, který musí být předem znám, a také neschopnost předpovědi fyzikálních vlastností související se změnou elektronové hustoty.



Obrázek 2.1: Struktura nanočástic zlata spojených vlákny DNA simulovaná pomocí molekulární dynamiky. Systém se skládal z více než dvou milionů atomů. Převzato z [1]

Metody kvantové chemie se opírají o kvantovou mechaniku. Tímto přístupem dosahujeme přesnějších výsledků, je zapotřebí méně parametrů (*ab initio* metody dokonce nevyžadují žádné vstupní parametry), avšak náročnost výpočtů je s molekulovou mechanikou nesrovnatelná. I když bylo vyvinuto několik různých přístupů, jak dospět co nejpřesněji a zároveň za rozumný čas k výsledkům, můžeme v současnosti počítat systémy obsahující maximálně stovky atomů.

Existuje způsob, jak zkombinovat výhody obou směrů. Z kvantově chemických metod můžeme vypočítat parametry silového pole použitého v molekulové mechanice. Tento přístup je velmi užitečným nástrojem pro vývoj nových silových polí, v této práci jej použijeme pro hledání nových parametrů silového pole, aby správně popisovalo chování studovaných molekul.

2.1. Molekulová mechanika

Molekulová mechanika je založena na Bornově-Oppenheimerově aproximaci, která zavádí energii systému jako funkci poloh jednotlivých jader atomů. Matematický předpis, který převádí polohy jader na energii, se nazývá silové pole a zpravidla používá několik jednoduchých funkcí pro potřebný popis meziatomových interakcí. Mezi základní interakce patří interakce krátkodosahové: natahování vazeb, deformace valenčního úhlu a otáčení kolem vazeb, a interakce dalekodosahové: elektrostatické a van der Waalsovy interakce.

Silové pole využívá empirických parametrů k výpočtu těchto interakcí. Jedná se například o tuhosti vazeb, rovnovážné délky vazeb nebo úhlů, elektrické náboje na atomech a mnoho dalších.

Pokud jsme schopni vypočítat energii systému v závislosti na polohách jader atomů, můžeme zkoumat struktury molekul. Systém může zaujímat takové rozložení, pro které dosahuje energie vypočtená ze silového pole minimální hodnoty. Tento jednoduchý model umožňuje studovat rozsáhlejší systémy, než kvantově mechanické metody. Bylo vyvinuto již mnoho silových polí, které se liší svými parametry, ale také empirickými vztahy.

Důležitou vlastností všech silových polí je přenositelnost empirických parametrů. Tím se rozumí, že soubor parametrů musí dostatečně přesně popisovat alespoň nějakou skupinu molekul. Kdybychom měli pro každou molekulu zadávat jiné parametry, silové pole by bylo málo použitelné.

2.1.1. Silová pole AMBER

V této práci byla použita silová pole ze sady AMBER, která jsou parametrizovaná na různé typy organických molekul nebo biomolekul. Například silová pole ff99SB a ff12SB [2] jsou vhodná pro popis aminokyselin, proteinů nebo DNA. GAFF (General Amber Force Field) obsahuje parametry popisující chování malých organických molekul [3]. Silová pole AMBER počítají potenciální energii z krátkodosahových a dalekodosahových interakcí jejichž obecný předpis vypadá následovně [4][5]:

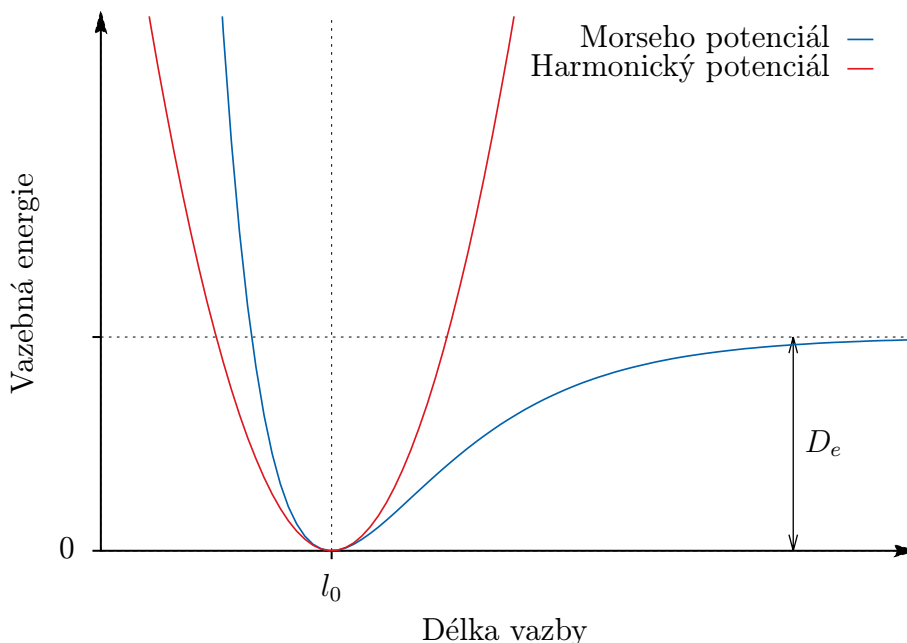
$$V(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \sum_{\text{vazby}} \frac{k_i}{2} (r_i - r_{0i})^2 + \sum_{\text{úhly}} \frac{l_i}{2} (\theta_i - \theta_{0i})^2 + \sum_{\text{torze}} \sum_n \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\omega - \gamma_n)] \\ + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j \neq i}^N \left(4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right) \quad (2.1)$$

První člen popisuje energii kovalentní vazby mezi dvěma atomy. Křivka potenciální energie pro typickou kovalentní vazbu má tvar Morseho potenciálu.

$$E_v = D_e (1 - \exp[-a(l - l_0)])^2 \quad (2.2)$$

Jelikož je tato závislost pro výpočet náročná, používá se harmonická aproximace, ve které je energie vazby nahrazena jednodušším harmonickým potenciálem.

$$E_v = \frac{k}{2} (l - l_0)^2 \quad (2.3)$$



Obrázek 2.2: Harmonická aproximace

Jak je patrné z obrázku 2.2, tato aproximace má jedno zásadní omezení - vazba mezi dvěma atomy je neporušitelná. Z tohoto důvodu není možné simulovat pomocí většiny silových polí chemické reakce, při kterých vznikají a zanikají vazby [4]. Pro zvýšení přesnosti se mohou použít členy vyššího řádu (kubický, kvartérní, atd.). Mezi empirické parametry patří l_0 vyjadřující rovnovážnou vzdálenost a silová konstanta k .

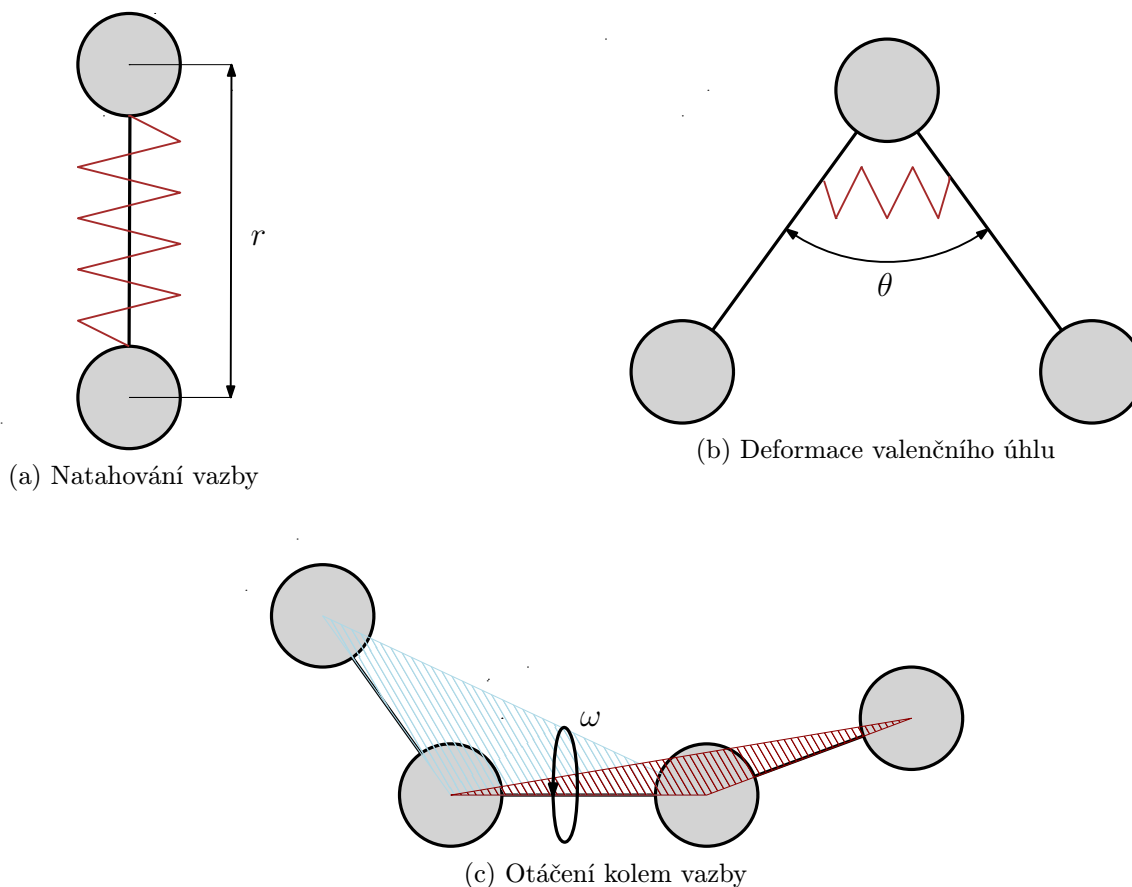
Druhý člen rovnice 2.1 je příspěvkem energie v důsledku změny valenčního úhlu θ . Tento vztah je opět popsán harmonickým potenciálem.

$$E_b = \frac{k}{2}(\theta - \theta_0)^2 \quad (2.4)$$

Přesnost uvedeného vztahu lze opět zvýšit zohledněním členů vyšších řádů. Empirickými parametry v tomto příspěvku jsou θ_0 vyjadřující rovnovážný úhel a silová konstanta k .

Energie torzních úhlů je posledním vztahem vazebné interakce vystupující v rovnici 2.1. Tento příspěvek v sobě obsahuje energii způsobenou změnou konfigurace v důsledku otočení kolem vazby. Příkladem může být molekula ethanu, pro kterou existují tři konformace, které mají různou energii v důsledku rotace kolem vazby C-C. Torzní potenciál je téměř vždy uváděn ve výše uvedeném vztahu, jako kosinová řada. Silová pole AMBER obsahují jeden až dva členy kosinové řady pro popis torzního potenciálu [4]. Na obrázku 2.3 je naznačeno natahování vazby, deformace valenčního úhlu a otáčení kolem vazby.

Dalšími příspěvky celkové energie jsou nevazebné interakce. První z nich je van der Waalsova interakce. Skládá se z přitažlivé a odpuzující části a je ji možné zapsat pomocí Lennard-Jonesova potenciálu. Přitažlivou část rostoucí k nule s šestou mocninou vzdálenosti lze odvodit na základě interakce dvou dipólů, avšak odpuzivá část je čistě empirický vztah.



Obrázek 2.3: Vazebné interakce silových polí AMBER

Posledním členem rovnice 2.1 je elektrostatická interakce a je počítána z Coulombova zákona. Parametry q_i, q_j značí parciální náboje rozmístěné na atomech.

Pokud tedy chceme vypočítat energii systému pomocí molekulové mechaniky, musíme znát v rovnici 2.1 následující empirické parametry:

$$k_i, l_i, r_{0i}, \theta_{0i}, V_n, \gamma_n, \epsilon_{ij}, \sigma_{ij}, q_i$$

2.1.2. Parametrizace silového pole

Silová pole ze skupiny AMBER jsou dobrým základem pro simulaci biomolekul nebo malých organických látek. Je však jasné, že nemůžou správně předpovědět chování všech látek. Pokud není popis silovým polem přesný, je možné u vybraných atomů změnit parametry silového pole takovým způsobem, aby výsledný popis co nejlépe odpovídal buď experimentálním datům, nebo hodnotám vypočítanými přesnějšími, nejčastěji kvantově-chemickými, metodami.

Force matching

V celé podkapitole jsme vycházeli z literatury [6], není-li uvedeno jinak.

Metoda Force matching nabízí postup, jak najít vhodné parametry silového pole, pokud nevyhovuje reálnému chování. Základním konceptem je snaha o minimalizaci funkce

$$\lambda(\tau) = \frac{1}{3LN} \sum_{l=1}^L \sum_{\alpha=1}^{N_l} |\mathbf{F}_{l_\alpha}(\tau) - \mathbf{F}_{l_\alpha}^0|^2 \quad (2.5)$$

kde τ značí soubor optimalizovaných parametrů silového pole pomocí souboru referenčních sil pro N atomů $\mathbf{F}_{l_\alpha}^0$ vypočítaných pomocí DFT nebo *ab initio* metod. L znamená počet konfigurací systému, pro které tyto referenční síly známe. Cesta k určení parametrů obsahuje následující čtyři kroky:

- Vytvoření referenčních struktur systému.
- Určení referenčních hodnot $\mathbf{F}_{l_\alpha}^0$ a elektrostatického potenciálu kolem systému z QM metod.
- Výpočet atomových nábojů q_α z elektrostatického potenciálu.
- Force matching metoda

V posledním bodě se nejprve z referenčních hodnot odečtou ne vazebné síly pomocí vypočtených nábojů a parametrů Lennard-Jonesového potenciálu. Dostaneme tak síly vzniklé důsledkem vazebných interakcí. Rovnice 2.5 pak pro soubor vazebných parametrů τ_v přejde na tvar

$$\sigma^2(\tau_v) = \sum_{l=1}^{L_v} \sum_{\alpha=1}^N \left| \mathbf{F}_{l_\alpha}^{MM_v}(\tau_v) - \left(\mathbf{F}_{l_\alpha}^{QM} - \mathbf{F}_{l_\alpha}^{MM_{nb}} \right) \right|^2 \quad (2.6)$$

kde $\mathbf{F}_{l_\alpha}^{MM_{nb}}$ je ne vazebná síla působící na 1 atom při dané konfiguraci. Minimum funkce $\sigma^2(\tau_v)$ se hledá pomocí numerických minimalizačních metod.

2.2. Metody kvantové chemie

Základem výpočetních metod, které se opírají o kvantovou mechaniku, je bezčasová Schrödingerova rovnice¹[7].

$$\hat{H}\psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots) = E\psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots) \quad (2.7)$$

$\mathbf{r}_i$ jsou polohové vektory částic, $\hat{H}$ se nazývá Hamiltonův operátor, který se skládá z operátoru kinetické a potenciální energie. Pro systém N elektronů a M jader jej můžeme zapsat ve tvaru [8]

$$\hat{H} = \sum_{i=1}^{M+N} -\frac{\hbar^2}{2m_i} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \right) + \frac{1}{2} \cdot \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \left(\sum_{i=1}^M \sum_{j \neq i}^M \frac{Z_i Z_j}{r_{ij}} - 2 \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N \frac{Z_i}{r_{ij}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j \neq i}^N \frac{1}{r_{ij}} \right) \quad (2.8)$$

¹Rovnice byla publikována roku 1926 rakouským fyzikem Erwinem Schrödingerem, po kterém je pojmenována.

Analytické řešení Schrödingerovy rovnice je známo pouze pro několik nejjednodušších systémů. Jako příklad můžeme uvést částici v nekonečně hluboké potenciálové jámě, kvantový harmonický oscilátor a atom vodíku.

Hranice mezi řešitelnými a neřešitelnými úlohami je vidět na příkladu atomu He. Tato úloha spadá do problému tří těles (atom helia se skládá ze dvou elektronů a jednoho jádra), u něhož neznáme přesné řešení.

Další komplikace spočívá v tom, že nerelativistická kvantová mechanika nezahrnuje explicitně spin elektronů, který je nezbytný pro správný popis atomů a molekul. Pro praktické použití potřebujeme popsat mnohem rozsáhlejší systémy, než je atom vodíku. Proto se musíme spokojit s přibližným řešením.

2.2.1. Ab initio metody

Všechny kvantově mechanické metody vycházejí z Bornovy-Oppenheimerovy aproximace. Hmotnost protonů je o mnoho větší (asi 1836krát), než hmotnost elektronů a díky tomu se elektrony pohybují o mnoho rychleji, než jádra. Tím pádem jsou schopny téměř okamžitě reagovat na změnu poloh jader [4]. Proto předpokládáme, že se elektrony pohybují v elektrostatickém poli fixních jader. Naopak jádra pomalu reagují na efektivní pole rychle se pohybujících elektronů. Vlnovou funkci systému ψ_S uvažujeme ve tvaru [9]

$$\psi_S(\mathbf{r}_i, \mathbf{R}_j) = \psi_e(\mathbf{r}_i, \mathbf{R}_j) \psi_N(\mathbf{R}_j) \quad (2.9)$$

kde ψ_e je vlnová funkce elektronů a ψ_N vlnová funkce jader.

Celkovou energii systému E_S se dá potom zapsat součtem vibrační, rotační a translační energie E_N a potenciální energie E_e (potenciální energie jader a potenciální energie elektronů pohybujících se v elektrostatickém poli jader společně s elektron-elektronovou interakcí).

$$E_S = E_e + E_N \quad (2.10)$$

Schrödingerova rovnice je i po užití Bornovy-Oppenheimerovy aproximace pro běžné systémy neřešitelná, nicméně bylo vyvinuto několik metod, jak dospět alespoň k přibližnému řešení [4].

Hartreeho-Fockova metoda

Jedním z užitečných *ab initio* přístupů je Hartreeho-Fockova metoda. Hlavní myšlenka Hartreeho-Fockovy metody spočívá v tom, že mnohaelektronovou vlnovou funkci systému $\psi_S(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots)$ uvažujeme ve formě Slaterova determinantu, který se počítá z jednoelektronových vlnových funkcí [9]. Při této definici ψ_S je totiž zajištěna velmi důležitá vlastnost všech fermionů - antisymetrie vlnové funkce. Vlnová funkce systému tedy vypadá následovně:

$$\psi_S(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \psi_1(\mathbf{r}_1) & \psi_2(\mathbf{r}_1) & \dots & \psi_N(\mathbf{r}_1) \\ \psi_1(\mathbf{r}_2) & \psi_2(\mathbf{r}_2) & \dots & \psi_N(\mathbf{r}_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \psi_1(\mathbf{r}_N) & \psi_2(\mathbf{r}_N) & \dots & \psi_N(\mathbf{r}_N) \end{vmatrix} \quad (2.11)$$

Rozepsáním determinantu bychom dostali $N!$ členů. Předpokládáme, že jednoelektronové vlnové funkce $\psi_i(\mathbf{r}_j)$ jsou normalizované, pak konstanta $\frac{1}{\sqrt{N!}}$ normalizuje vlnovou funkci $\psi_S(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots)$ celého systému. Pomocí variačního principu z výrazu pro celkovou energii a užitím metody Lagrangeových multiplikátorů dojdeme k Hartreeho-Fockovým rovnicím pro jednoelektronové vlnové funkce [9].

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\Delta_i^2\psi_i(\mathbf{r}_i) - \sum_{j=1}^M \frac{Z_j}{r_{ij}}\psi_i(\mathbf{r}_i) + \sum_{j \neq i}^N \left[\int \frac{|\psi_j(\mathbf{r}_j)|^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_j \psi_i(\mathbf{r}_i) - \right. \\ \left. - \delta(\sigma_i, \sigma_j) \int \frac{\psi_j^*(\mathbf{r}_j)\psi_i(\mathbf{r}_j)}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_j \psi_j(\mathbf{r}_i) \right] = \epsilon_i \psi_i(\mathbf{r}_i) \quad (2.12)$$

Operátor působící na funkce $\psi_i(\mathbf{r}_i)$ se nazývá Fockův operátor a lze jej rozdělit na tři části. První část

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\Delta_i^2 - \sum_{j=1}^M \frac{Z_j}{r_{ij}}$$

popisuje kinetickou a potenciální energii elektronu v poli jader. Coulombická část

$$\sum_{j \neq i}^N \int \frac{|\psi_j(\mathbf{r}_j)|^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_j$$

zahrnuje elektron-elektronovou interakci a výměnná část

$$- \sum_{j \neq i}^N \delta(\sigma_i, \sigma_j) \int \frac{\psi_j^*(\mathbf{r}_j)\psi_i(\mathbf{r}_j)}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_j \psi_j(\mathbf{r}_i)$$

popisuje interakci elektronů se stejnými spiny. Právě poslední část zajišťuje nulovou pravděpodobnost nalezení dvou elektronů se stejným spinem v jednom bodě. Je tak vyhověno Pauliho vylučovacímu principu.

Tímto postupem dojdeme k soustavě nelineárních integrodiferenciálních rovnic, která může být řešena přímo numerickými metodami nebo můžeme vlnové funkce ψ_i rozepsat do konečné ortonormální báze [4].

$$\psi_i = \sum_{j=1}^k c_{ij} \phi_j \quad (2.13)$$

Tím dospějeme k soustavě nelineárních rovnic, které se nazývají Roothanovy rovnice [9]. Velkým nedostatkem HF metody je chyba způsobená použitím jednoelektronové aproximace a to nezahrnutí korelační energie. Tento nedostatek řeší navazující post-HF metody nebo metody funkcionálu hustoty.

2.2.2. Teorie funkcionálu hustoty

Teorie funkcionálu hustoty (DFT) patří dneska k nejpoužívanějším metodám kvantové chemie díky dobrému poměru přesnosti a výpočetní náročnosti. Počátkem této teorie by se dal považovat rok 1964, kdy pánové Pierre Hohenberg a Walter Kohn ukázali, že energie základního stavu je jednoznačným funkcionálem elektronové hustoty [10].

$$E_S = E_S[\rho] \quad (2.14)$$

Toto je velmi zarážející fakt, neboť vlnová funkce systému s N elektrony, ze které můžeme vypočítat energii užitím Schrödingerovy rovnice, je funkce $3N$ proměnných, zatímco elektronová hustota ρ , která vyjadřuje rozložení pravděpodobnosti výskytu elektronů v prostoru, je funkce jen tří proměnných. Z výpočetního hlediska bude tedy výhodnější pracovat místo vlnové funkce s elektronovou hustotou.

Kohn a Sham rozepsali funkcionál následovně [4][7]:

$$E[\rho] = E_{Ne}[\rho] + E_{ee}[\rho] + T[\rho] + E_{XC}[\rho] \quad (2.15)$$

První člen popisuje interakci elektronů s vnějším potenciálem tvořeným kladně nabitými jádry $V_{ext}(\mathbf{r})$. Funkcionál $E_{Ne}[\rho]$ je tedy dán výrazem

$$E_{Ne}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (2.16)$$

Druhý funkcionál zahrnuje Coulombovskou interakci elektronů. Můžeme jej vyjádřit jako

$$E_{ee}[\rho] = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\mathbf{r}_1)\rho(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (2.17)$$

$T[\rho]$ je funkcionál kinetické energie. Bohužel není znám jeho přesný předpis z elektronové hustoty. Z kvantové mechaniky jsme však schopni vypočítat kinetickou energii neinteragujících elektronů ve vnějším poli kladně nabitých jader [9].

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V_{ext}(\mathbf{r}) \right] \psi_i = \epsilon_i \psi_i \quad (2.18)$$

Celkovou kinetickou energii N elektronů vypočítáme jako

$$T[\rho] = \sum_{i=1}^N \int \psi_i(\mathbf{r}) \left(-\frac{\nabla^2}{2} \right) \psi_i(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (2.19)$$

Vlnové funkce $\psi_i(\mathbf{r})$ musíme hledat tak, aby z nich vycházela skutečná elektronová hustota systému. Neboli musí platit podmínka

$$\sum_{i=1}^N |\psi_i(\mathbf{r})|^2 = \rho(\mathbf{r}) \quad (2.20)$$

Poslední člen rovnice 2.15 je tzv. výměnný-korelační funkcionál zohledňující chyby, kterých jsme se dopustili v důsledku aproximace.

První aproximace vznikla zápisem funkcionálu E_{ee} . V energii je totiž zahrnuta interakce elektronu se sebou samým, neboť z hustoty, na rozdíl od vlnové funkce, nelze poznat,

jakému elektronu a v jakém množství v daném bodě hustota patří. Výměnná část se snaží eliminovat tuto chybu.

Druhá aproximace spočívá ve výpočtu kinetické energie neinteragujících elektronů. Kinetická energie elektronů, které navzájem působí, je jiná. V korelační části se pokoušíme zahrnout rozdíl těchto energií.

Přesný tvar výměnného-korelačního funkcionálu není znám. Prvním krokem bývá rozdělení problému na výměnnou a na korelační část. V každém vyvinutém funkcionálu energie se tento problém řeší různě.

Energie základního stavu, který se DFT metody snaží nalézt, je spojeno s minimální hodnotou celkové energie. Hledáme tedy takové rozložení elektronové hustoty, aby energie systému byla minimální. Je-li $\rho(\mathbf{r})$ hustota N elektronů, musí platit

$$\int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N \quad (2.21)$$

Užitím metody Lagrangeových multiplikátorů, kde jako vaznou podmínku užijeme rovnici 2.21 a multiplikátor označíme $-\mu$ dostaneme výraz pro extrém energie [4]

$$\frac{\delta E[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} = \mu \quad (2.22)$$

Tato rovnice platí pouze za předpokladu, že vnější potenciál je konstantní. Požadujeme tedy fixní polohy jader, což je po zavedení Bornovy-Oppenheimerovy aproximace splněno.

Výraz na levé straně v předchozí rovnici můžeme rozepsat pomocí funkcionálu celkové energie v rovnici 2.15[9].

$$\frac{\delta E[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} = V_{ext}(\mathbf{r}) + \frac{\delta T[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} + \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\mathbf{r}_1)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_1|} d\mathbf{r}_1 + \frac{\delta E_{XC}[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} \quad (2.23)$$

K rovnici 2.22 lze dojít ze Schrödingerovy rovnice 2.18 za podmínky, že vlnové funkce ψ_i jsou ortogonální. Potenciál jader pouze nahradíme efektivním potenciálem V_{eff} , který obdržíme z funkcionálu pro celkovou energii. Tímto dospějeme ke Kohnovým-Shamovým rovnicím, které lze zapsat ve tvaru [7]

$$\left[-\frac{\nabla^2}{2} + V_{eff} \right] \psi_i = \epsilon_i \psi_i \quad (2.24)$$

kde

$$V_{eff} = V_{ext}(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}_1)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_1|} d\mathbf{r}_1 + V_{XC}(\mathbf{r}) \quad (2.25)$$

Předpokládáme, že lze najít výměnně-korelační potenciál $V_{XC}(\mathbf{r})$, pro který platí:

$$E_{XC}[\rho(\mathbf{r})] = \int V_{XC}(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (2.26)$$

Kohnovy-Shamovy rovnice se řeší iterační metodou, která vede k self-konzistenci. Je třeba provést počáteční odhad elektronové hustoty, který dosadíme do rovnice 2.24. Tím dostaneme soubor nových Kohnových-Shamových orbitalů, ze které vypočítáme novou elektronovou hustotu do dalšího kroku. Tento postup se opakuje, dokud se nedosáhne konzistentního výsledku [9].

Funkcionály energie se dělí do následujících skupin podle různého přístupu, jak tento potenciál přibližně odhadnout.

Lokální funkcionály

Nejjednodušší cestou, jak obdržet výměnně-korelační potenciál V_{XC} , je aproximace lokální hustoty. Toto zjednodušení je založeno na předpokladu, že elektronová hustota $\rho(\mathbf{r})$ je v celém objemu konstantní. Pro výměnný funkcionál byl Slaterem roku 1971 odvozen analytický předpis. Korelační část je popsána například VWN funkcionálem (vyvinutým Voskem, Wilkem, Nusairem roku 1980) [4].

Nelokální funkcionály

Lokální funkcionály v některých případech naprosto selhávají. Možným zlepšením je zavedení závislosti potenciálu i na gradientu elektronové hustoty. Obvykle se opět problém rozdělí na hledání výměnné a korelační části zvlášť. Jedním z nejznámějších nelokálních funkcionálů je BLYP, který obsahuje výměnnou část objevenou Beckem a korelační část od pánů Lee, Yang a Parr [4].

Dalším rozšířením jsou meta-funkcionály pracující i s laplaciánem elektronové hustoty.

Hybridní funkcionály

Hlavní myšlenkou hybridních funkcionálů je vyjádření výměnné části, která se vypočítá pomocí výměnného funkcionálu z Harteeho-Fockovy metody a částečně z lokálních a nelokálních funkcionálů. HF metoda totiž není tolik zatížena chybou v důsledku elektron-elektronové interakce. Slaterův determinant pro HF metodu počítáme z Kohnových-Shamových orbitalů. Tento přístup vede ke zlepšení přesnosti, avšak za cenu pomalejšího výpočtu kvůli výpočtu HF výměnné energie.

Jedním z velmi používaných hybridních funkcionálů je B3LYP. Jedná se o Beckeho tříparametrový funkcionál s korelačním potenciálem od Leeho, Yanga a Parra. Tvar výměnné-korelačního funkcionálu je následující [7]:

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1 - a_0)E_X^{LSDA} + a_0E_X^{HF} + a_x\Delta E_X^{B88} + a_C E_C^{LYP} + (1 - a_C)E_C^{VWN} \quad (2.27)$$

V této práci byl použit M06-2X funkcionál publikovaný Y. Zhaem a D. G. Truhlaem [11]. Patří do hybridních meta-funkcionálů a zahrnuje 54% výměnné energie z HF metody. Výměnný-korelační potenciál je počítán ze vztahu:

$$E_{XC}^{M06-2X} = \frac{X}{100}E_X^{HF} + (1 - \frac{X}{100})E_X^{DFT} + E_C^{DFT} \quad (2.28)$$

Bázové funkce v DFT

Důležitým krokem, který využívají DFT programy, aby dospěly k řešení Kohnových-Shamových rovnic je rozepsání vlnových funkcí ψ_i do konečné báze.

$$\psi_i = \sum_{j=1}^K c_{ij}\mu_j \quad (2.29)$$

V DFT metodě se nejčastěji používají dva typy bází. V obou případech se opírají o tvar vlnových funkcí, které jsou řešením pro atom vodíku. Báze má tedy tvar [4]

$$\mu_{n,l,m}(r, \theta, \phi) = R_{nl}(r)Y_{lm}(\theta, \phi) \quad (2.30)$$

$R_{nl}(r)$ se nazývá radiální část, $Y_{lm}(\theta, \phi)$ angulární část.

- STO - Slater type orbitals - je báze, která má analytickou formu radiální části navrženou fyzikem J. E. Slaterem:

$$R_{nl}(r) = Nr^{n-1}e^{-\zeta r} \quad (2.31)$$

kde N je normalizační konstanta, n přirozené číslo a ζ konstanta zohledňující stínění elektronů od jader v mnohaelektronových systémech.

Výhodou STO báze je velmi přesné vyjádření atomových orbitalů, v mnoha případech však není vhodná z toho důvodu, že může být velmi obtížné až nemožné vypočítat interakci dvou elektronů, které se nachází na různých atomech. Kvůli tomuto problému byl zaveden druhý typ bází [4].

- GTO - Gaussian type orbitals - mají podobný tvar, jako STO, avšak s jedním podstatným rozdílem. Radiální část $R_{nl}(r) \sim e^{-\zeta r^2}$. Díky tomu se dá součin dvou orbitalů i na různých atomech napsat jako jeden orbital lokalizovaný na spojnici mezi dvěma jádry. GTO však mají jisté nedostatky. První nedokonalost vzniká příliš rychlým utlumením funkce ve velkých vzdálenostech elektronu od jádra. Druhá slabina je zaoblení a pokles extrému funkce $R_{nl}(r)$ v počátku. Z těchto důvodů bychom se nahrazením STO za GTO dopustili příliš velké chyby, proto se každý atomový orbital vyjadřuje lineární kombinací Gaussových funkcí. Tímto krokem dostaneme kontrahované orbitály Gaussova typu (CGTO) s následujícím tvarem radiální části [4]

$$R_{nl}(r) = r^{n-1} \sum_{p=1}^L N_p e^{-\zeta_p r^2} \quad (2.32)$$

K dostatečně přesnému vyjádření Slaterova orbitalu potřebujeme alespoň tři Gaussovy funkce. Vhodným zvolením konstant N_p obdržíme bázi STO-3G, užitím čtyř Gaussových funkcí pak STO-4G.

Užití CGTO báze může být v mnoha případech stále nepřesné, především při počítání s atomy na konci řádků periodické soustavy prvků. Z tohoto i dalších důvodů se valenční Kohnovy-Shamovy orbitály, které nejvíce reagují na okolí, vyjadřují lineární kombinací více CGTO bází. Podle počtu CGTO bází na jeden KS orbital rozlišujeme báze DZ (double- ζ), TZ (triple- ζ), případně další. Většinou se pro správný popis rozložení náboje na atomech přidávají k bázi tzv. polarizační funkce, což jsou funkce s angulární částí vlnové funkce s vyšším vedlejším kvantovým číslem. Jejich užití se značí (*) nebo písmenem P pro těžké atomy, (**) nebo písmeny PP pro těžké i lehké atomy. Jako příklad můžeme uvést Poplovy split valence báze 3-21G, 6-31G nebo 6-31G* [12]. Báze 6-31G* vychází z 6-31G a obsahuje polarizační funkce na všech atomech kromě vodíku a helia [4]. Dalším příkladem jsou split valence báze vyvinuté Ahlrichsem a spolupracovníky [13]: def2-SVP, def2-TZVP, def2-TZVPP.

2.3. Molekulární dynamika

Molekulární dynamika sleduje časový vývoj systému pomocí integrace Newtonových pohybových rovnic. Výsledkem výpočtu je trajektorie, která říká, jak se mění polohy atomů v čase. Soustava diferenciálních rovnic popisující pohyb atomů je popsána druhým Newtonovým zákonem, který lze matematicky vyjádřit následovně [4]:

$$\frac{d^2x_i}{dt^2} = \frac{F_{x_i}}{m_i} = -\frac{\partial V}{\partial x_i} \quad (2.33)$$

Kde F_{x_i} je výsledná síla působící na i -tou částici o hmotnosti m_i ve směru x_i a V potenciální energie (například z rovnice silového pole 2.1, ale může se k ní dospět i kvantově-chemickými metodami).

Řešení těchto rovnic se hledá výhradně numericky. Prvním krokem je diskretizace času, kdy se ptáme, jak bude vypadat systém v čase $t + \delta t$. Zároveň předpokládáme, že síla působící na atom mezi časy t a $t + \delta t$ je konstantní. V dalším kroku vypočítáme nové polohy atomů pomocí druhého Newtonova zákona a z nových poloh odvodíme velikost sil pro časový úsek $t + 2\delta t$. Je známo několik postupů, jak efektivně integrovat Newtonovy pohybové rovnice. Mezi nejpoužívanější algoritmy využívaných v molekulárně dynamických simulacích patří Verletova metoda, která používá pozice a zrychlení atomů v čase t a pozice z předchozího kroku v čase $t - \delta t$ k výpočtu další polohy v čase $t + \delta t$. Používanou variací na Verletův algoritmus je leap-frog metoda, která nepočítá polohy a rychlosti ve stejném čase, ale v časech posunutých o polovinu integračního kroku δt [4].

2.3.1. Nastavení a start molekulárně dynamické simulace

Při numerickém řešení diferenciálních rovnic je třeba znát počáteční podmínky zkoumaného systému. U integrace Newtonových rovnic se jedná o polohy atomů a jejich rychlosti. Počáteční polohy jsou dány konfigurací systému, která může být známa z experimentálních dat nebo z teoretických výpočtů. Aby se zabránilo přehřátí systému v důsledku startu z neoptimální geometrie, nejdříve se provede její optimalizace. V tomto procesu se hledají nové polohy atomů tak, aby energie systému byla co nejmenší. Po minimalizaci obdržíme systém v konfiguraci odpovídající teplotě 0 K. Počáteční rychlosti se pak volí tak, aby odpovídaly teplotě systému. Toho se dosahuje tím způsobem, že atomům náhodně přiřadíme pomocí Maxwellova-Boltzmannova rozložení (rovnice 2.34) rychlosti ve směru x_i tak, aby odpovídaly teplotě T [4].

$$f(v_{x_i}) = \sqrt{\frac{m_i}{2\pi k_B T}} \exp\left(-\frac{1}{2} \frac{m_i v_{x_i}^2}{k_B T}\right) \quad (2.34)$$

Tato rovnice nám říká, jaká je hustota pravděpodobnosti rychlosti v_{x_i} i -tého atomu o hmotnosti m_i při teplotě T .

Ekvilibrace

V následujícím kroku se systému přiřadí nízké rychlosti odpovídající nízké teplotě a polohy atomů se nechají vyvíjet v čase. Po několika krocích se rychlosti atomů zvětší tak, aby odpovídaly vyšší teplotě. Systém se tak pomalu zahřívá až na požadovanou teplotu. Tímto

postupem dosáhneme stabilizované teploty. Celý proces probíhá za konstantního objemu (NVT).

Po zahřátí systému je nutné ještě upravit rozměry simulačního boxu. Toho lze dosáhnout simulací za konstantního tlaku. Při tomto procesu postupně měníme rozměry simulačního boxu tak, aby střední tlak v systému odpovídal cílové hodnotě, která nejčastěji bývá 100 kPa.

Jakmile je systém ekvilibrován, tj. teplota a tlak odpovídají nastaveným hodnotám, je možné přistoupit k takzvané produkční dynamice, která slouží ke sběru dat. Nejčastěji se jedná o trajektorii, což je časový záznam konfigurace atomů simulovaného systému. Její analýzou lze popsat chování systému a určit celou řadu fyzikálních vlastností systému.

3. Teorie

Následující kapitola je rozdělena do tří částí. V první sekci popíšeme iontový kanál, na který bude přidána fotocitlivá molekula - přemostěný azobenzen. V další části popíšeme vlastnosti přemostěného azobenzenu a jeho roli jako fotocitlivého molekulárního přepínače. Poslední část bude věnována struktuře hrotu AFM, jehož model a následná simulace provedené v této práci budou užitečným výsledkem pro další studie na Ústavu fyzikálního inženýrství.

Pro účely snadnější orientace v dalším textu je potřeba říct na úvod pár slov o vlastnostech a složení buněčných membrán. Podrobnější informace lze nalézt v [14][15].

Základní složka buněčné membrány se nazývá lipidová dvouvrstva. Jedná se o dvě vrstvy lipidů, které na sebe přiléhají svými nepolárními konci. Tato dvouvrstva ve vodném prostředí vzniká samouspořádáním dílčích molekul, což je velmi důležitou vlastností pro existenci všech živých organismů. K další důležité vlastnosti lipidové dvouvrstvy patří polopropustnost neboli semipermeabilita: přes dvouvrstvu můžou projít malé nepolární molekuly, pro ostatní látky je však lipidová dvouvrstva nepropustná.

Vevnitř a vně buňky je důležité udržet optimální hladinu iontů. Protože samotná membrána je pro ionty nepropustná, je rovnováha (homeostáza) iontů udržována pomocí iontových kanálů zabudovaných do buněčné stěny, přes které jsou schopny ionty specificky putovat dovnitř a ven podle potřeby.

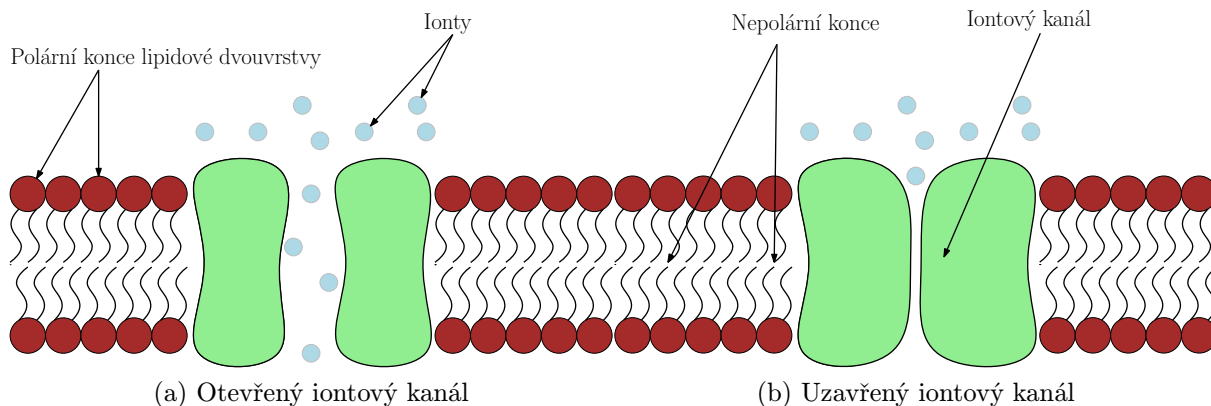
3.1. Iontový kanál

Iontovým kanálem rozumíme biomolekulu zabudovanou v buněčné membráně, která zajišťuje průchod specifických iontů. Přírodní iontové kanály se vyznačují možností ovládání jejich propustnosti. Celý proces průchodu iontů funguje buď na principu difuze, díky které se ionty přednostně pohybují podle koncentračního spádu, nebo je transport zajištěn proti koncentračnímu spádu a transport iontů tak vyžaduje externí zdroj energie. Aby byla zajištěna funkčnost kanálu, musí být nějakým způsobem otevírán a zavírán. Iontové kanály hrají velmi důležitou roli ve všech buňkách kvůli zajištění homeostázy. Další funkcí je zajištění přenosu nervových vzruchů v nervových buňkách, kde jsou pomocí těchto struktur vysílány elektrické signály. Na obrázku 3.1 je zachyceno schéma otevřeného a uzavřeného iontového kanálu.

Přírodou bylo vyvinuto mnoho druhů iontových kanálů lišících se od sebe typem iontů, které jsou schopny propouštět, ale také způsobem otevírání a zavírání. Změna propustnosti je v buňkách nejčastěji řízena elektrickým potenciálem na membráně, nebo navázáním specifického ligandu na receptor iontového kanálu.

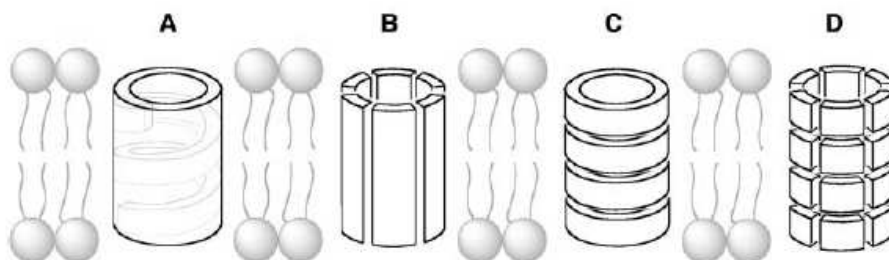
3.1.1. Umělé iontové kanály

Přírodní iontové kanály nabízí velmi zajímavé vlastnosti v oblasti řízeného přenosu iontů, avšak jejich praktické použití omezuje příliš nízká stabilita a velká komplexnost těchto biomolekul [17]. Proto se začátkem 21. století začaly intenzivně studovat jednodušší umělé struktury, které by dokázaly stejně uspokojivě přenášet vybrané ionty přes lipidovou membránu [14][15].



Obrázek 3.1: Schema iontového kanálu zabudovaného v lipidové dvoustvvi

Následující obrázek znázorňuje různé přístupy k výstavbě umělých iontových kanálů. V prvním případě se jedná o jednu makromolekulu válcového tvaru, skrz kterou mohou ionty procházet. Druhý model je tvořen pomocí příček, které dohromady vytváří iontový kanál. Příkladem takového kanálu může být amphotericin B v membráně obsahující cholesterol. [14].



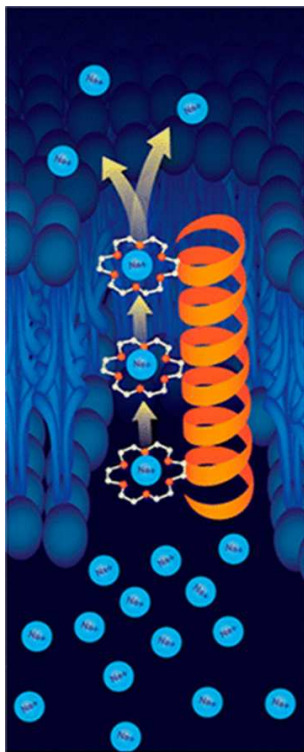
Obrázek 3.2: Základní typy umělých iontových kanálů. Obrázek (A) představuje unimolekulární iontový kanál. Na obrázku (B) je model příčkového iontového kanálu. V (C) je vidět obručový iontový kanál a na posledním obrázku kombinace části (B) a (C). Převzato z [14]

Další možnost, jak sestavit funkční iontový kanál, je znázorněna pod písmenem (C). Skládá se z oddělených obručí, které na sebe navazují. Prvním tohoto druhu byl Tabushiho iontový kanál vystavěný pomocí modifikovaného β -cyklodextrinu [16].

Poslední druh umělých iontových kanálů se skládá z obručí, které jsou složeny z příček, jak je vidět na obrázku 3.2 v části (D). Tato struktura je od předešlých složitější, přesto jsou známy molekuly, které mají schopnost samouspořádání do takovéto struktury. Byly například vyvinuty iontové kanály na bázi čtyř guaninů tvořících jednu obruč. Tyto obruče se byly schopny pod sebe systematicky řadit za vzniku tohoto iontového kanálu [14].

3.1.2. Peptidový iontový kanál s crownetherovými kruhy

Rozhodli jsme se použít a modifikovat iontový kanál vyvíjený skupinou Otise, Augera a Voyera z univerzity Laval [17]. Jeho struktura je zobrazena na obrázku 3.3. Jedná se o unimolekulární iontový kanál skládající se z peptidového řetězce s α -helikální sekundární strukturou a z crownetherových kruhů, které jsou na peptidovém řetězci zarovnány tak, aby se kationty alkalických kovů mohly dostat skrz tyto kruhy přes membránu.



Obrázek 3.3: Peptidový iontový kanál s crownetherovými kruhy zabudovaný v membráně. Převzato z [17].

Crownetherové kruhy se řadí mezi cyklické oligoethery s několika výhodami, které se uplatnily při vývoji umělých iontových kanálů. Roku 1967 byla Charlesem Dupondem objevena jednoduchá metoda, jak crownetherové makrocycly syntetizovat. Díky tomu se začaly tyto sloučeniny intenzivněji zkoumat a zjistilo se, že mají možnost na sebe silně vázat kationty alkalických kovů. Vazebná síla závisí na druhu kationtu a na velikosti crownetheru, proto lze pro různé ionty navrhnout crownethery doslova na míru, aby měl iontový kanál co nejlepší vlastnosti.

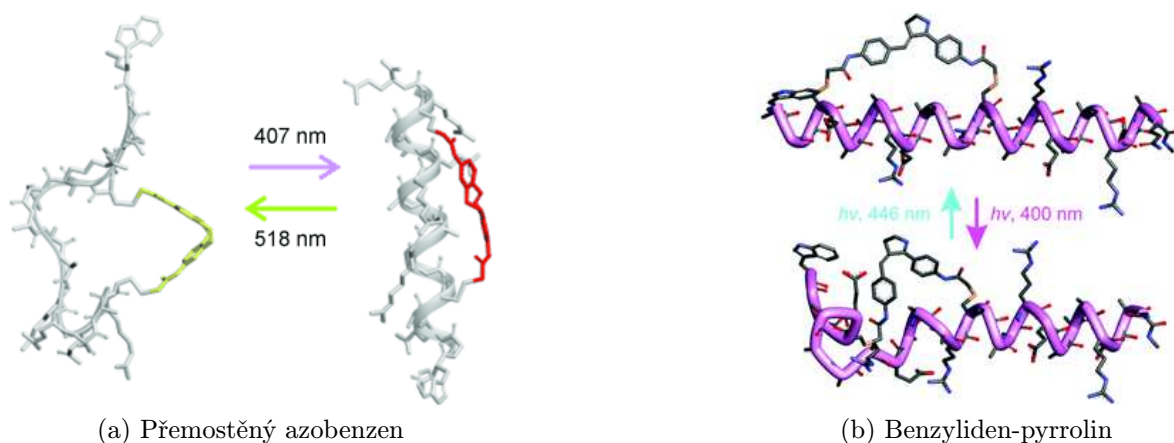
Mezi výhody tohoto modelu patří jeho jednoduchá syntéza a možnost lehce měnit parametry iontového kanálu [17]. V naší práci navíc oceníme možnost použít silová pole AMBER popsaná v předcházející kapitole k simulaci iontového kanálu.

Zde popsanému iontovému kanálu chybí jedna důležitá vlastnost. Nejsme schopni ovládat jeho propustnost, což je velmi důležitým předpokladem pro jeho využití. Jednou z možností, jak ovládat propustnost iontového kanálu uvnitř organismu, je využití světla.

3.1.3. Ovládání iontového kanálu

Pro vývoj kanálu jako spouštěče nervového vzruchu i jako možného protirakovinného léčiva je zapotřebí použít přepínač, jehož aktivace bude šetrná vůči organismu. Bylo by tedy dobré, aby šel iontový kanál ovládat způsobem, který nebude ovlivňovat funkci organismu a aby byla změna propustnosti co nejvíce selektivní. Z těchto důvodů se k ovládání iontového kanálu nabízí použití světla.

Jsou známy fotocitlivé molekuly, které při absorpci světla změni konformaci nebo konfiguraci. Takovými molekulami jsou například benzyliden-pyrrolin a přemostěný azobenzen, jejichž struktury jsou znázorněny na obrázku 3.4. Jedná se o fotocitlivé přepínače, u nichž bylo nedávno zjištěno, že dokážou reverzibilně měnit konfiguraci peptidového řetězce v závislosti na vlnové délce absorbovaného světla [18][19]. Mechanismus změny konfigurace zachycuje obrázek 3.4.



Obrázek 3.4: Fotocitlivé přepínače, které jsou schopny porušit α -helikální strukturu peptidu při změně konfigurace. Převzato z [18][19].

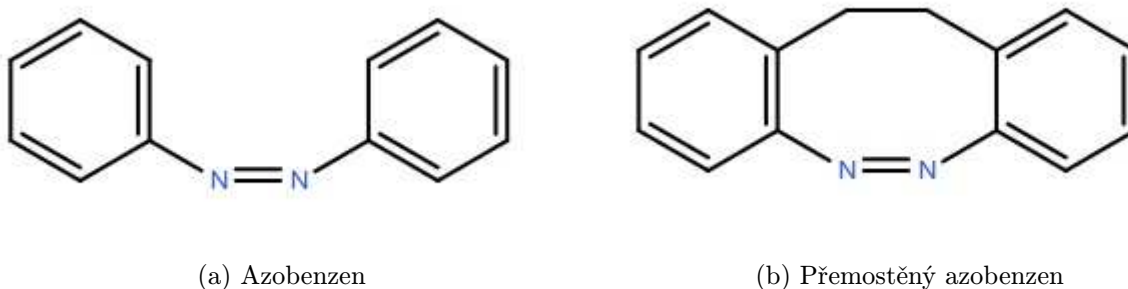
Vlastnost změny konfigurace fotocitlivých molekul využijeme při otevírání a zavírání světlem ovládaného crownetherového iontového kanálu. Myšlenka je taková, že stabilnější izomer poruší pravidelnou α -helikální strukturu peptidu. Tím se poruší zarovnání crownetherových kruhů pod sebe a ionty nebudou moci nadále skrz membránu procházet. V praktické části se budeme zabývat ověřením tohoto předpokladu.

3.2. Přemostěný azobenzen

Jako fotocitlivý přepínač jsme zvolili přemostěný azobenzen, jehož izomery zachycuje obrázek 3.5. Jedná se o azobenzen, jehož uhlík v poloze *ortho* na jednom benzenu a uhlík v poloze *ortho* na druhém benzenu spojuje ethylenový můstek.

Výhody přemostěného azobenzenu

Přemostěný azobenzen jsme pro roli fotocitlivého přepínače vybrali z následujících důvodů:



Obrázek 3.5: Struktura azobenzenu a přemostěného azobenzenu

- První výhodou je jednodušší struktura, než u benzylden-pyrrolinových přepínačů. V praktické části se nám budou daleko snáze modelovat struktury *E* a *Z* izomeru pro ověření správného chování molekuly.
- Druhou výhodou je celkem jednoduchá syntéza této molekuly. Tato vlastnost by byla důležitá v případě syntézy iontového kanálu.
- Třetí zásadní výhodou je stabilita *E*- a *Z*- izomerů. *Z*- izomer je energeticky výhodnější konfigurace, než *E*- izomer, což koresponduje s naším požadavkem, aby byla ve výchozím stavu preferovaná pokroucená struktura peptidu, která tak nebude schopna ionty transportovat. Termální aktivační energie se podle DFT výpočtů pro *E*/*Z* izomeraci pohybuje kolem 30 kcal/mol [20].

Nemodifikovaný azobenzen bychom nemohli použít kvůli dvěma faktům. Energeticky výhodnější je *E*-izomer, pro který by však byl peptidový řetězec narovnaný. Kdybychom vycházeli ze *Z*- izomeru, bylo by zapotřebí překonat menší energetickou bariéru danou aktivační energií při přechodu ze *Z*- na *E*-izomer a iontový kanál by tedy snáze propouštěl ionty.

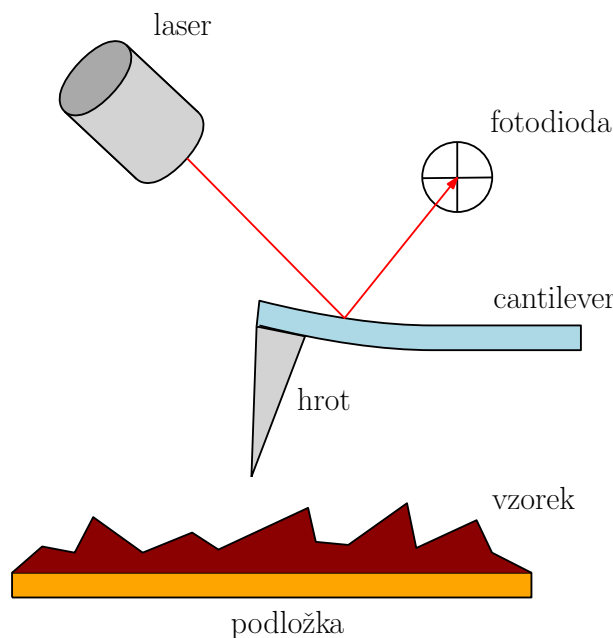
Druhým důvodem je překryv absorpčních spekter obou izomerů, což snižuje selektivitu ovládání azobenzenu pomocí světla. Druhý izomer by se mohl přepnout zpět na první při absorpci světla o stejné vlnové délce. U přemostěného azobenzenu je asi 85 nm široká mezera, která odděluje vlnové délky, při kterých absorbují pouze *E*-izomery od vlnových délek při kterých absorbují pouze *Z*-izomery [18].

Bohužel se ukazuje, že silová pole AMBER nejsou schopna dobře popsat přechod přemostěného azobenzenu z jednoho izomeru na druhý. GAFF nedokáže dobře popsat tranzitní stav ani struktury izomerů přemostěného azobenzenu. Proto budeme muset hledat takové parametry silového pole, který by tento proces popsaly lépe.

3.3. Hrot AFM

Atomic Force Microscopy (v překladu mikroskopie atomárních sil) je dnes velmi rozšířená zobrazovací technika publikovaná roku 1986 Binnigem, Quatem a Gerberem [21]. Vyznačuje se vysokým rozlišením a nízkou náročností na úpravu vzorků, a proto se používá v mnoha disciplínách. Tuto metodu můžeme uplatnit při zobrazování nanostruktur, ale také při studiu makromolekul, struktury DNA nebo tvaru buněk.

Princip této metody spočívá v detekci sil působících mezi velmi ostrým hrotem a vzorkem. Průběh měření je naznačen na obrázku 3.6. Při skenování vzorku se vlivem atomárních sil mění průhyb nosníku, od kterého se odráží laserový svazek. Tento svazek je pomocí čtyřkvadrantové fotodiody převeden na elektrický signál. Tak lze zpětně dopočítat, o kolik se cantilever ohnul a tím pádem i zjistit, jak hluboké jsou nerovnosti povrchu. Poloměr křivosti hrotu v jeho nejostřejší části (špičce) bývá kolem 10 nm, což je dostačující pro zaznamenávání i velmi jemných nerovností. Podložka se při skenování pohybuje v rovině kolmé na hrot pomocí piezoelektrických krystalů, které zajišťují velmi přesný a zároveň velmi jemný posuv.

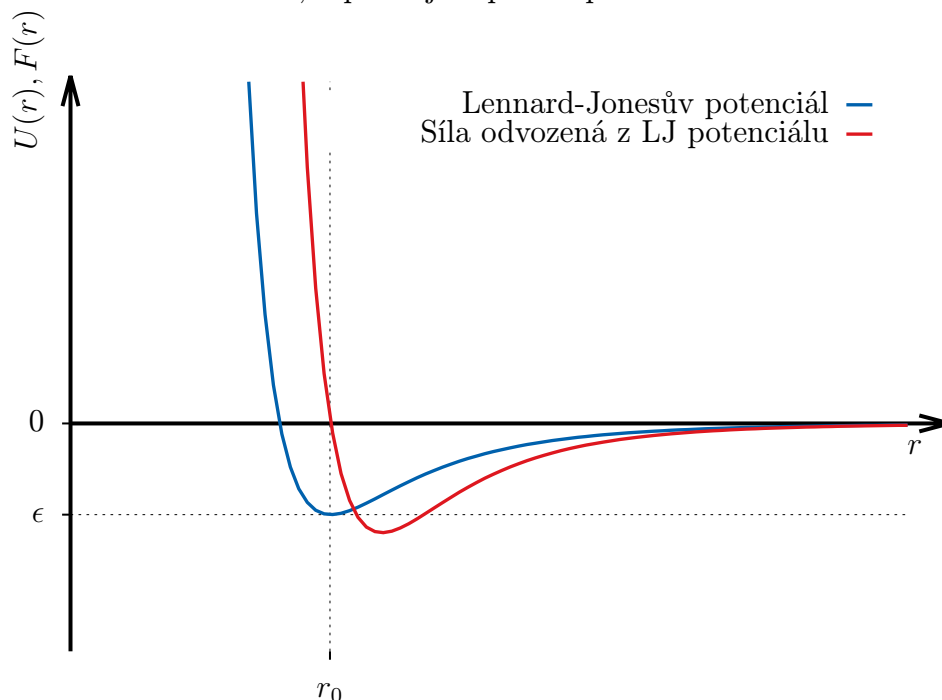


Obrázek 3.6: Schéma mikroskopie atomárních sil.

Popsat celkovou sílu, kterou působí vzorek na hrot, není zdaleka triviální, průběh interakce lze však aproximovat pomocí Lennard-Jonesova potenciálu vystupujícím v rovnici 2.1. Měření pomocí mikroskopie atomárních sil probíhá v jednom ze dvou základních režimů. Tyto režimy se od sebe liší tím, že pracují na různých stranách od rovnovážné polohy r_0 v Lennard-Jonesově potenciálu, jak je vidět na obrázku 3.7.

- V kontaktním módu se pohybujeme v levé části od rovnovážné polohy r_0 . Síla působí proti hrotu a ten je od vzorku odtlačován. Lze měřit v režimu konstantní síly, kdy se vzdálenost hrotu od povrchu mění takovým způsobem, aby byla síla stejná, nebo v režimu konstantní výšky, ve kterém je vzdálenost hrotu od vzorku zafixovaná a detekuje se změna interakční síly. Z této změny se zpětně dopočítává vzdálenost hrotu od měřeného vzorku.

- Bezkontaktní mód probíhá v pravé části od rovnovážné polohy r_0 . Je tedy patrné, že vzdálenost hrotu od povrchu je mnohem větší. Na hrot působí přitažlivá síla, která je ale mnohem menší, než v kontaktním módu. Vzorek se měří tím způsobem, že necháme cantilever rozkmitat na jeho rezonanční frekvenci a pozorujeme, jak se tato frekvence mění vlivem přitažlivých sil vzorku. Tento mód je šetrnější díky menším silám k hrotu i ke vzorku, a proto je v praxi upřednostňován.



Obrázek 3.7: Graf Lennard-Jonesova potenciálu a z něj odvozená síla

3.3.1. Vodní meniskus v AFM

Mikroskopie atomárních sil může probíhat v různých prostředích a při různých podmínkách vzhledem k nenáročnosti na přípravu zkoumaného vzorku. Obrovskou výhodou této metody (na rozdíl od jiných zobrazovacích technik, jako například SEM, SIMS, XPS a další), je možnost měření při pokojové teplotě a atmosférického tlaku. Zajímavý úkaz nastává při relativní vlhkosti kolem 50% [22]. Mezi hrotem a zkoumaným povrchem může vlivem adhezních sil vzniknout vodní meniskus, který zásadním způsobem ovlivňuje celkovou interakci hrotu se vzorkem. Tvorba vodního menisku a s ním vzniklá síla přitahující hrot k povrchu je předmětem zkoumání a dosud nebyla vytvořena ucelená teorie, která by dokázala vysvětlit tuto interakci v nanometrovém měřítku.

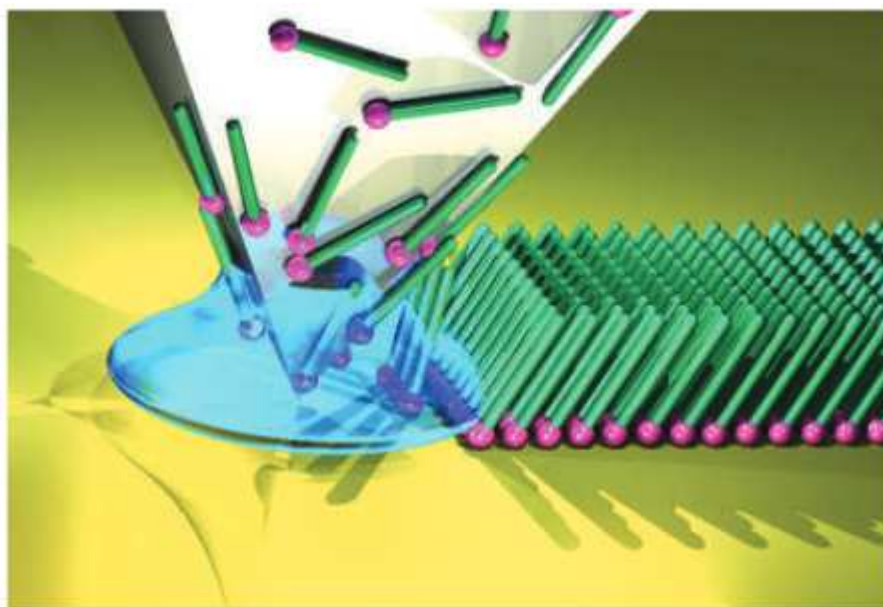
Síla vzniklá v důsledku vodního menisku je závislá na relativní vlhkosti, na vzdálenosti hrotu od povrchu, tvaru hrotu, ale také na tvaru vzniklého vodního menisku. Se vzrůstající vlhkostí vždy roste jeho šířka, avšak vzniklá síla může růst i klesat v závislosti na stabilitě menisku. Dále obecně platí, že větší poloměr špičky hrotu znamená lepší stabilitu vodního menisku [23]. Naopak se ukazuje, že teplota nemá zásadní vliv na tyto interakční síly.

AFM hrot nemusí sloužit pouze k zobrazování povrchů, ale lze s jeho pomocí nanostruktury vytvářet. Vodní meniskus, který vzniká mezi hrotem a vzorkem, může být

dokonce prospěšný. Popíšeme dvě metody, které jej využívají a vedou k výrobě velmi přesně definovaných nanostruktur.

Dip-pen nanolithography (DPN)

Dip-pen nanolitografie využívá AFM hrot spolu s vytvořeným vodním meniskem k transportu molekul na substrát, kde vytváří nanostrukтуры podle toho, jak se po povrchu hrot pohybuje. Na obrázku 3.8 je ukázán princip, jak DPN funguje. Tloušťka vzniklé nanostruktury se pohybuje mezi 1 nm - 100 nm v závislosti na parametrech hrotu [24]. Příkladem nanostruktury vytvořené touto metodou může být monovrstva alkanthiolu na zlatém povrchu. Tyto molekuly jsou známy svou vlastností vytvořit přesně definovanou monovrstvu vlivem adsorpčních sil působících mezi thiolovou skupinou a zlatem [25]. AFM hrot a vodní meniskus nechávají aktivní molekuly na přesně definovaném místě. Fungují tu podobně jako plnicí pero, které zanechává inkoust na papíře.



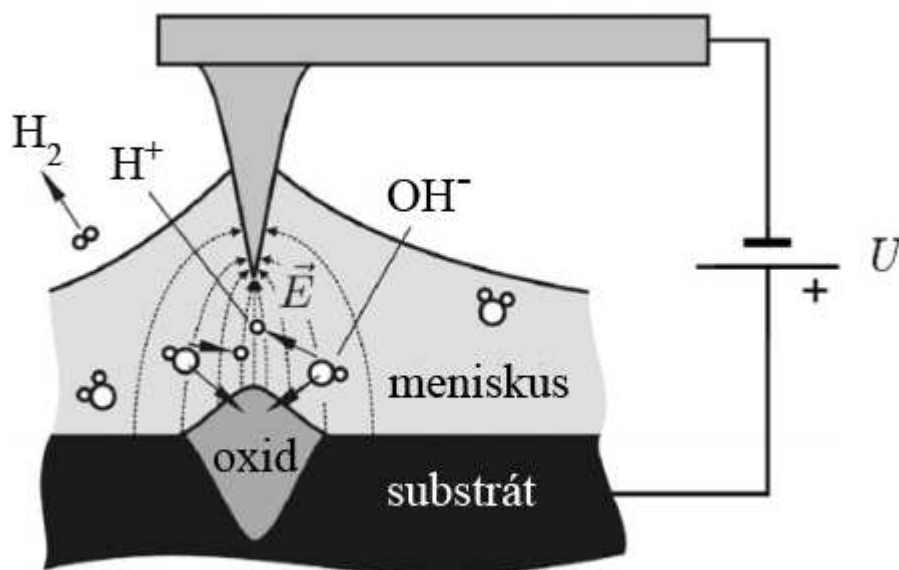
Obrázek 3.8: Schéma dip-pen nanolitografie. Převzato z [24]

Lokální anodická oxidace (LAO)

K vytvoření nanostruktur pomocí AFM hrotu a vodního menisku lze využít elektrické pole. Pokud na hrot přivedeme záporné napětí a na substrát napětí kladné, jak ukazuje obrázek 3.9, vznikne mezi hrotem a substrátem elektrické pole o intenzitě řádu 10^7 Vm^{-1} . V důsledku tak vysoké hodnoty dojde k disociaci vody obsažené v menisku a vzniknou fragmenty H^+ , OH^- , O^{2-} . Záporně nabitě částice vzniklé z vody jsou přitahovány k substrátu, který mohou při vhodné volbě zvoleného materiálu lokálně zoxidovat. Pokud budeme hrot posouvat po povrchu, bude nám v důsledku přiloženého napětí vznikat nanostruktura oxidu. Jako příklad uveďme vrstvu oxidu SiO_2 vytvořeném na povrchu $\text{Si}(1\ 0\ 0)$ pasivovaném 2% HF [22].

Obě metody tedy nabízí alternativní přístup k rozšířenějším optickým nebo elektro-novým litografickým metodám, které jsou omezeny vlnovou délkou použitého světla nebo

elektronu. DPN a LAO jsou schopny vytvořit struktury o šířce několika desítek nanometrů a tím se ostatním litografickým metodám vyrovnat.



Obrázek 3.9: Průběh lokální anodické oxidace

3.3.2. Struktura hrotu

V praxi je potřeba, aby hrot splňoval několik vlastností. Jak už bylo řečeno, musí být dostatečně ostrý, protože rozlišovací schopnost mikroskopu závisí na poloměru křivosti hrotu. Další důležitou vlastností je dostatečná tvrdost, aby nedocházelo při měření k příliš velkému opotřebení. V dnešní době se používají hroty z dopovaného křemíku, nitridu křemíku nebo oxidu křemíku. Pro velmi vysoké rozlišení je možno použít hrot z uhlíkové nanotrubic.

V této práci se budeme zabývat simulací vodního menisku. Pro jeho vznik je třeba zvolit hydrofilní materiál, aby se mohly molekuly vody adsorbovat na povrch hrotu. Z tohoto důvodu jsme zvolili oxid křemičitý, který je znám svojí smáčivostí. Pro jednoduchost jsme stejný materiál použili i k vymodelování povrchu, mezi nímž a hrotem bude vodní meniskus studován.

4. Praktická část

Praktická část je zaměřena na výsledky a popis postupu při počítačových simulacích umělého fotocitlivého iontového kanálu a AFM hrotu. Hlavními cíli v prvním úkolu bude reparametrizace silového pole pro správný popis fotocitlivého přepínače a simulace iontového kanálu v lipidové dvouvrstvě. V druhém úkolu je popsáno sestavení modelu AFM hrotu a podložky. Dále je diskutována interakce hrotu s povrchem ve vodném prostředí a vytvoření vodního menisku mezi hrotem a povrchem na základě krátké zkušební molekulárně dynamické simulace.

K DFT výpočtům byl použit program Gaussian [26], molekulárně dynamické simulace běžely v programu Amber [2]. Dále byly použity aplikace Avogadro [27], Nemesis [28], Vesta [29] a VMD [30] pro vizualizaci a sestavování vstupních struktur.

4.1. Simulace iontového kanálu

Klíčovým úkolem pro správný popis molekulárního přepínače na bázi přemostěného azobenzenu je správný popis přechodu mezi jeho *E*- a *Z*- izomery. Bohužel se ukázalo, že silové pole GAFF tento přechod nepopisuje správně. Počáteční testy například odhalily, že geometrická minima v silovém poli GAFF neodpovídají očekávaným geometriím jednotlivých izomerů. Silové pole také nebylo schopno popsat správně tranzitní stav přechodu. Proto jsme museli hledat nové parametry silového pole. Jak dále ukážeme, geometrie obou izomerů se převážně liší pouze torzním úhlem C-N=N-C. Budeme tedy hledat nové parametry pouze pro torzní potenciál zobrazený v rovnici 2.1 popisující rotaci kolem N=N vazby. Samotnému nalezení vhodných parametrů torzního potenciálu předcházely výpočty na azobenzenu, který je daleko lépe zdokumentovaný a již dříve byly vypočteny i naměřeny aktivační a reakční energie při přechodu azobenzenu z jednoho izomeru na druhý izomer.

Strukturu (*E*)-azobenzenu, (*Z*)-azobenzenu a tranzitního stavu jsme optimalizovali metodami UB3LYP-d3bj/6-31G* a UM06-2X-d3/def2-TZVPP. Tabulka 4.1 ukazuje výsledky optimalizace v podobě reakční a aktivační energie spolu s převzatými hodnotami vypočtenými pomocí metody CAS(10,8)/6-31G*¹ z [31]. Parametr d3 a d3bj ve funkcionálech značí korekci na disperzní interakci, kterou DFT metody nepopisují dobře [32][33]. Z tabulky 4.1 je patrné, že obě metody došly zhruba ke stejné hodnotě reakční energie.

	UB3LYP-d3bj/6-31G*	UM06-2X-d3/def2-TZVPP	Referenční hodnota
Aktivační energie	31,0	38,8	40,4
Reakční energie	12,4	12,4	11,9

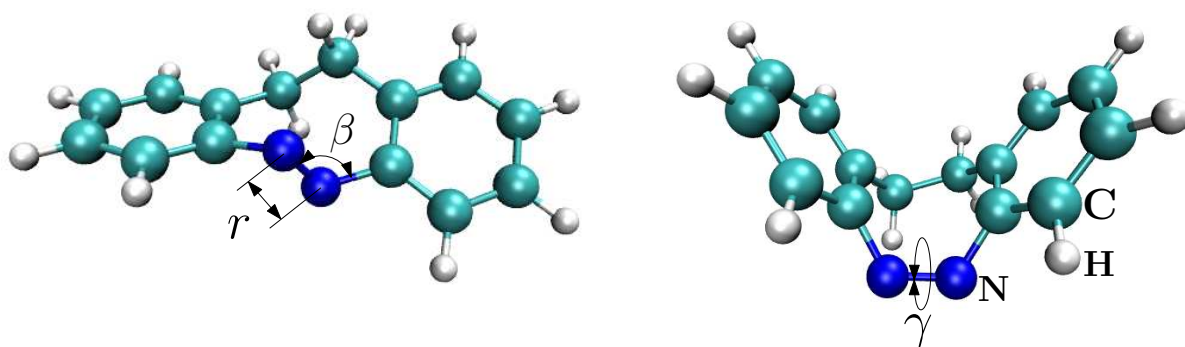
Tabulka 4.1: Srovnání reakční a aktivační energie azobenzenu dvěma metodami při přeměně *E*-izomeru na *Z*-izomer. Energie jsou vyjádřeny v kcal/mol.

Z první metody jsme však získali aktivační energii o 7,1 kcal/mol menší, než byla referenční hodnota. Metoda UM06-2X-d3/def2-TZVPP i v tomto případě podala lepší výsledek, a proto jsme se rozhodli použít tuto metodu k získání dat pro reparametrizaci silového pole GAFF.

¹Jedná se o *Complete active space* self-konzistentní metodu deseti elektronů v osmi orbitalech

4.1.1. Optimalizace izomerů přemostěného azobenzenu

Izomery přemostěného azobenzenu byly namodelovány v programu Avogadro a jejich struktura byla předoptimalizována metodou UB3LYP-d3bj /6-31G*. *E*- a *Z*- izomer přemostěného azobenzenu byl následně optimalizován funkcí UM06-2X-d3 s vyšší bází def2-TZVPP. Obrázek 4.1 zachycuje výsledné struktury a v tabulce 4.2 je možno vyčíst vybrané parametry pro oba zoptimalizované izomery.



Obrázek 4.1: Optimalizované geometrie *E*- a *Z*- izomeru přemostěného azobenzenu.

		Symbol	<i>E</i> -forma	<i>Z</i> -forma
Délka vazby [Å]	N=N	r	1,26	1,25
Vazebný úhel [°]	N=N-C	β	111,6	120,5
Torzní úhel [°]	C-N=N-C	γ	147,0	5,7
Reakční energie [kcal/mol]		E_R	8,0	

Tabulka 4.2: Parametry *E*- a *Z*- izomerů přemostěného azobenzenu vypočtené metodou UM06-2X-d3/def2-TZVPP

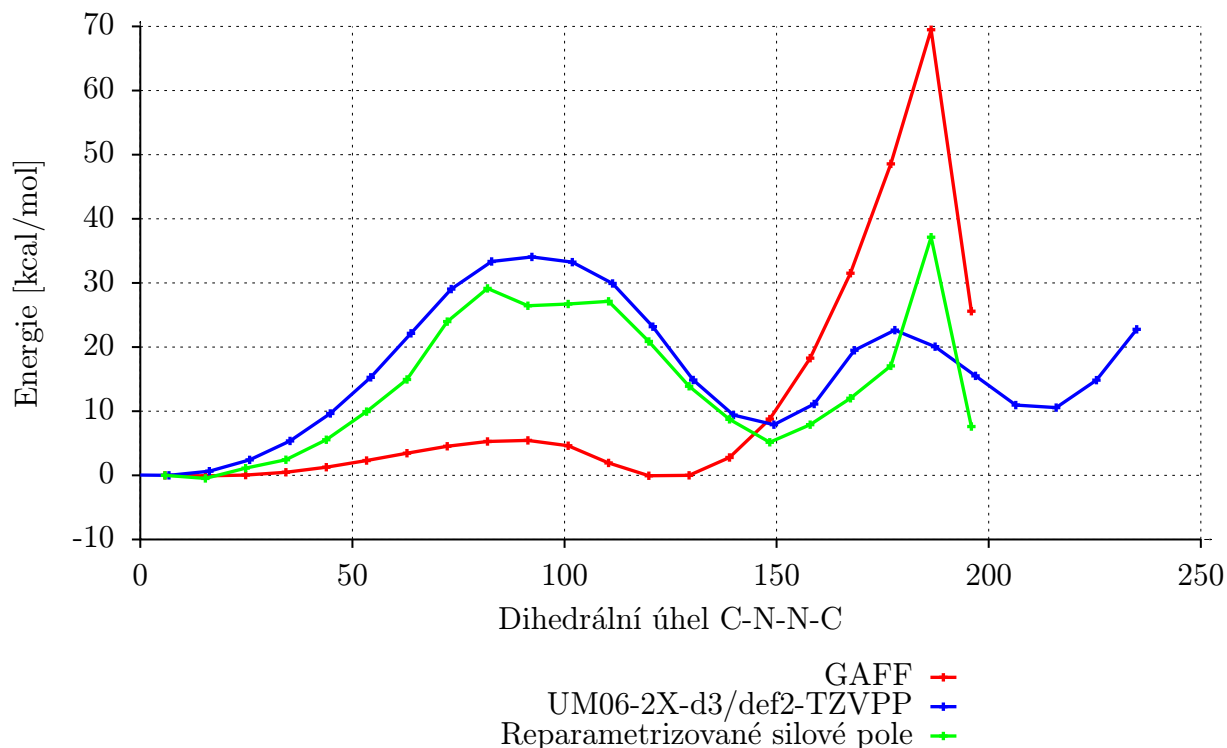
Z výsledků je patrné, že se oba izomery od sebe liší pouze velikostí torzního úhlu C-N=N-C, zatímco délka vazby N=N ani úhel mezi vazbami N=N a N-C se příliš nemění. Budeme tedy předpokládat, že přepínání mezi těmito dvěma izomery probíhá změnou torzního úhlu C-N=N-C. Reakční energie je asi o polovinu menší, než v případě azobenzenu a *Z*-izomer nám správně vyšel energeticky stabilnější.

Program Gaussian umožňuje provádět částečné optimalizace s definovanou vazební podmínkou vloženou na geometrický parametr. Je tedy možné zafixovat torzní úhel na požadovanou hodnotu a zbytek molekuly s ohledem na tuto podmínku optimalizovat. Tímto způsobem budeme sledovat závislost energie molekuly na torzním úhlu - reakční koordinátě. Tomuto postupu se říká *single coordinate driving* (SCD).

4.1.2. Reparametrizace silového pole

Graf 4.2 ukazuje závislost energie na torzním úhlu C-N=N-C vypočtené metodou UM06-2X-d3/def2-TZVPP a pomocí silového pole GAFF. Vzhledem k náročnosti výpočtu byly opět všechny struktury u DFT metody nejdříve optimalizovány pomocí UB3LYP-d3bj/def2-TZVPP.

Silové pole GAFF špatně odhadlo velikost torzního úhlu pro *Z*-izomer, aktivační energii i reakční energii mezi *E*- a *Z*-izomery. Číselné výsledky jsou zaznamenány v tabulce 4.3.



Obrázek 4.2: Závislost energie na reakční koordinátě vypočítaná metodou UM06-2X-d3/def2-TZVPP a pomocí silového pole GAFF

	UM06-2X-d3/def2-TZVPP	GAFF
Reakční energie [kcal/mol]	8,0	0,0
Aktivační energie [kcal/mol]	34,1	5,5
Torzní úhel <i>Z</i> -izomeru [°]	129,4	147,0

Tabulka 4.3: Číselné srovnání výsledků ze silového pole GAFF a UM06-2X-d3/def2-TZVPP

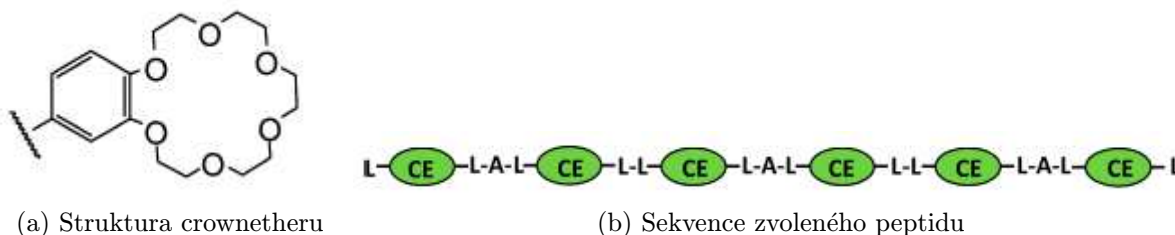
Vzhledem k tomu, že se při otáčení kolem N=N vazby v podstatě měnil pouze tento torzní úhel, budeme hledat nové parametry do příspěvku torzního potenciálu - 3. členu v rovnici 2.1. Pro dostatečně přesné výsledky jsme v rozvoji použili 12 členů kosinové řady a hledali vhodné parametry V_i a γ_i pro torzní úhel C-N=N-C. Celkově bylo optimalizováno

váno 23 parametrů, neboť první člen nezávisí na torzním úhlu a obě konstanty se mohou nahradit jednou. Vypočítané energie z DFT metody jsme použili jako výchozí hodnoty a hledali jsme nové parametry tak, aby residuální součet čtverců rozdílů výchozích energií a energií z nově parametrizovaného silového pole byl minimální. Parametry se hledaly minimalizační metodou L-BFGS [34].

Výsledky optimalizace parametrů jsou zobrazeny v podobě zelené křivky v grafu 4.2. Křivka zachycuje průběh SCD pomocí silového pole s novými parametry. Na první pohled je vidět, že nové parametry vedou k daleko lepšímu popisu izomerace. Střední kvadratická chyba nových parametrů činila asi 0,47 kcal/mol na 1 trénovací bod.

4.1.3. Stavba iontového kanálu

Iontový kanál, který jsme namodelovali, se skládá ze tří částí. Hlavní částí, která drží celou strukturu dohromady, je oligopeptidový řetězec s α -helikální strukturou. Sekvenci aminokyselin jsme převzali z [17] zobrazenou na obrázku 4.3b. Crownether jsme zvolili 18-crown-6, jehož struktura je vidět na obrázku 4.3a. Experimentálně naměřená propustnost tohoto kanálu by se měla pohybovat kolem 28 % pro sodné ionty a 38 % pro draselné ionty [17].

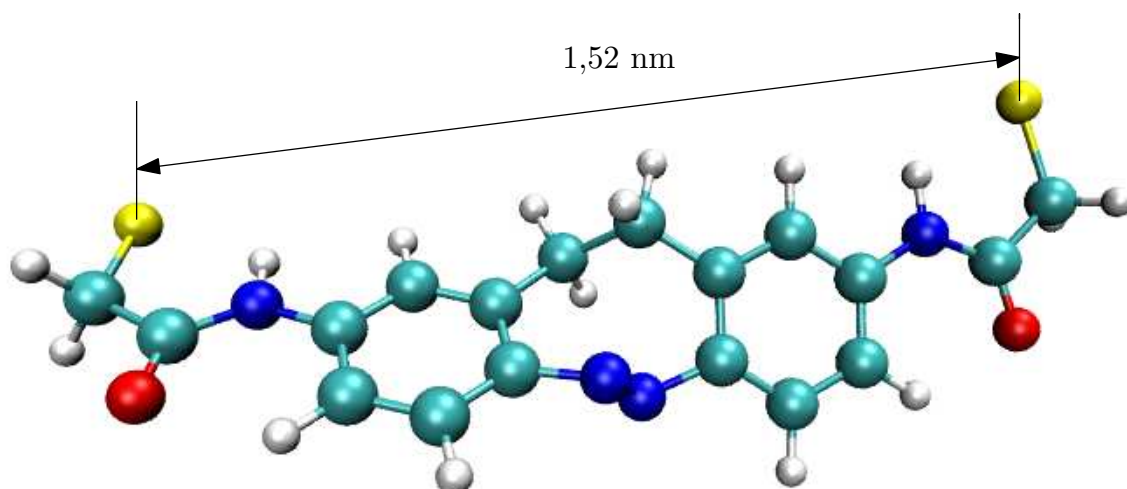


Obrázek 4.3: Části modelovaného iontového kanálu. Převzato z [17].

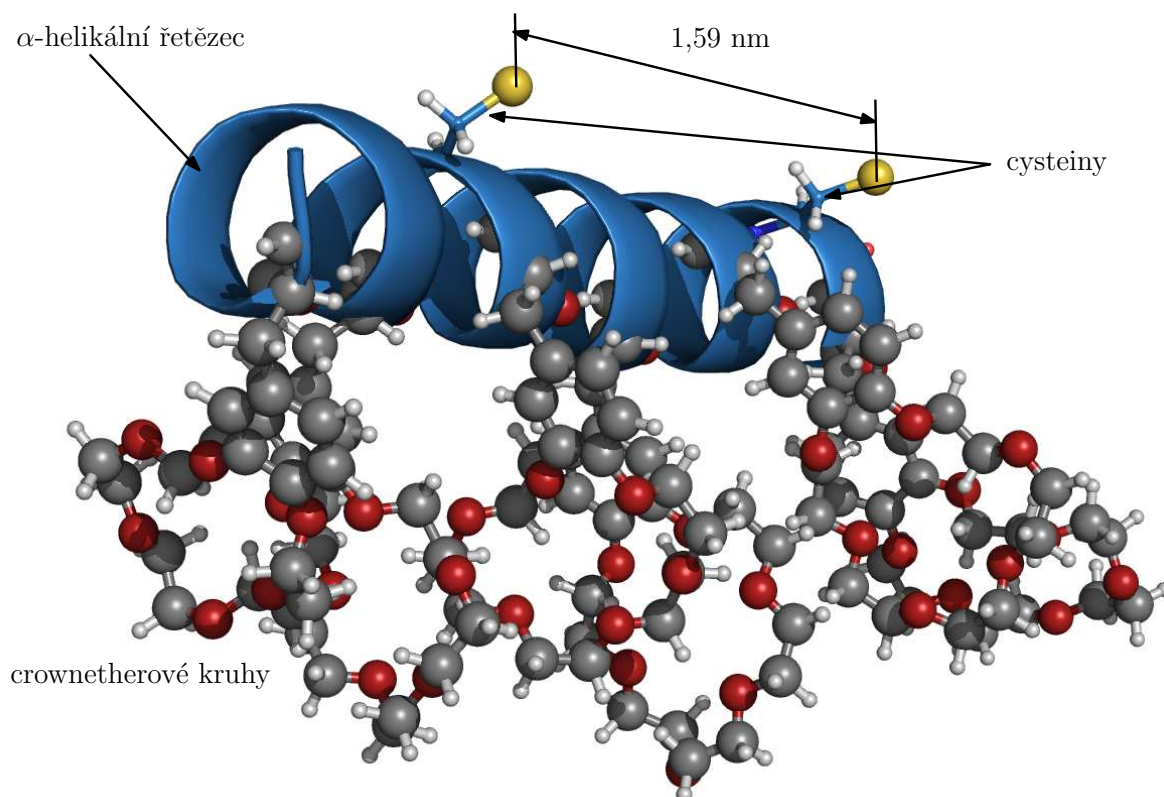
Přemostěný azobenzen jsme nejprve museli modifikovat, aby se mohl navázat na peptidovou páteř. Do para-poloh na benzenových jádrech byla vložena 2-chloracetamidová skupina, která je známa svoji reaktivitou s cysteinovou -SH skupinou. Při této reakci se modifikovaný přemostěný azobenzen napojí na peptidovou páteř pomocí S-C vazby. Nejprve jsme zoptimalizovali strukturu derivatizovaného přemostěného azobenzenu, abychom určili délku této molekuly. Na peptidovém řetězci jsme nahradili dvě aminokyseliny za cystein tak, aby koncové -SH skupiny měly vzdálenost srovnatelnou s modifikovaným azobenzenem.

Vzdálenost dvou atomů chlóru, které budou reagovat s peptidovým řetězcem, nám po optimalizaci vyšla kolem 1,52 nm. Struktura molekuly je zachycena obrázkem 4.4. Na peptidovém řetězci jsme následně hledali taková místa, aby atomy síry měly podobnou vzdálenost.

Jako nejvhodnější místo pro nahrazení cysteinem jsme zvolili leucin 8 a leucin 19. Při výměně aminokyselin měly síry od sebe akceptovatelnou vzdálenost 1,59 nm, navíc má v tomto místě přepínač dobrou polohu vůči crownetherům, protože leží na druhé straně peptidového řetězce. Iontový kanál je zobrazen na obrázku 4.5. Zvažovali jsme i nahrazení leucinů 7 a 17, nebo leucinů 3 a 14, avšak vzdálenost atomů síry byla méně příznivá, navíc



Obrázek 4.4: Struktura přemostěného azobenzenu obsahující 2-chloracetamidové skupiny optimalizovaná metodou UB3LYP-d3bj/6-31G*



Obrázek 4.5: Iontový kanál s leucinem 8 a 19 nahrazeným za cystein

se přepínač nacházel blíže ke crownetherovým kruhům, což by mohlo ovlivnit schopnost azobenzenu měnit propustnost iontového kanálu.

V dalším kroku bylo zapotřebí zjistit náboje na jednotlivých atomech modifikovaného přemostěného azobenzenu. Za tímto účelem jsme nahradili atomy chlóru na koncích molekuly za methylsulfidovou skupinu, čímž se lépe vystihne způsob vazby na peptidový skelet. Z DFT metod je možno odvodit elektrostatický potenciál v různých bodech kolem molekuly. Z vypočtených hodnot potenciálu se pomocí metody nejmenších čtverců hledají optimální bodové náboje umístěné na atomech. V našem případě byl elektrostatický potenciál počítán metodou UM06-2X-d3/def2-TZVPP, náboje pak metodou RESP [35] a celkový náboj na všech atomech byl nastaven na nulu. Další vaznou podmínkou byl celkový náboj na obou methylsulfidových skupinách, který byl opět nastaven na nulu.

Nakonec před samotným navázáním azobenzenu na iontový kanál bylo potřeba doplnit parametry silového pole popisující vazbu síry na cysteinu a uhlíku na azobenzenu. Všechny chybějící parametry jsme adaptovali ze silového pole ff14SB [3].

4.1.4. Zabudování iontového kanálu do lipidové dvouvrstvy

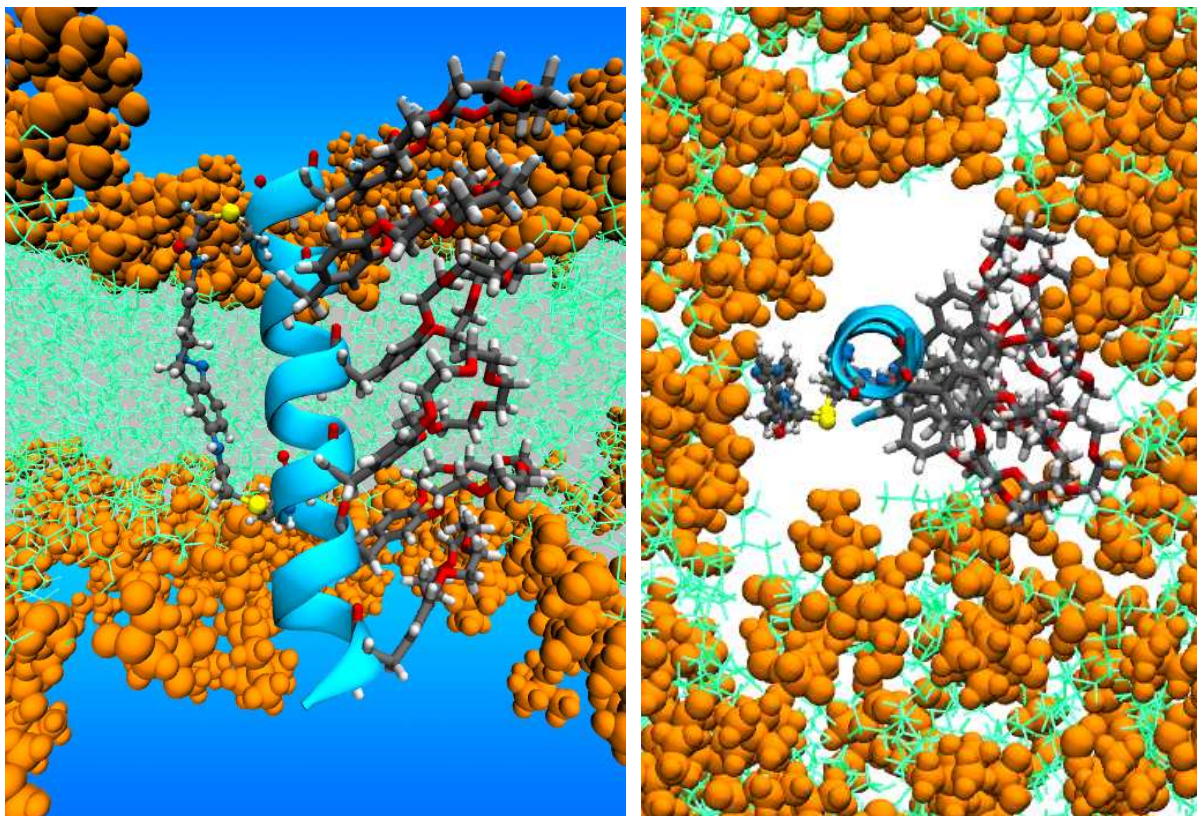
V naší práci byla použita dvouvrstva typu DPPC (dipalmitoylphosphatidylcholin), na které byla experimentálně testována funkčnost samotných iontových kanálů [17]. Lipidová dvouvrstva byla vytvořena *in silico* a ekvilibrována (300 ns při konstantní teplotě 323 K a tlaku 100 kPa, data byla poskytnuta školitelem) v programu Amber. Parametry pro lipidovou dvouvrstvu byly převzaty ze silového pole lipid14 [36]. Jako solvent byl zvolen TIP3P model vody [3]. Membrána byla vložena do roztoku KCl o přibližné koncentraci 0,15 mol/l. Parametry pro ionty byly převzaty z práce [37]. Iontový kanál byl vložen pomocí softwaru Nemesis do středu membrány a orientován tak, aby crownetherové kruhy vedly skrz membránu. Poté byly vybrány všechny atomy membrány, které měly vzdálenost menší než 1 Å od jakéhokoli atomu iontového kanálu. Nakonec jsme vymazali všechny molekuly membrány, které obsahovaly vybrané atomy. Výsledný systém je vidět na obrázku 4.6. Nalevo je zachycen pohled v řezu středu membrány, napravo pohled z vrchu.

Jak je patrné z obrázku 4.6b, kolem iontového kanálu vznikla při zabudování iontového kanálu do membrány velká mezera v důsledku smazání celých molekul, které se byt pouze jedním atomem přiblížily k iontovému kanálu. Tento nedostatek bude opraven v dalším kroku při ekvilibraci v rámci molekulárně dynamické simulace.

4.1.5. Ekvilibrace membrány s iontovým kanálem

Ze sestaveného modelu byla spuštěna ekvilibrace s následujícími kroky:

- Minimalizace energie systému v 10000 krocích s fixními polohami vody a iontů a periodickými okrajovými podmínkami. Cut-off pro přímou sumaci nevazebných interakcí byl 1 nm.
- 100 ps NVT ekvilibrace na 100 K v periodických okrajových podmínkách s cut-off vzdáleností 1 nm za použití Langevinova termostatu (kolizní frekvence byla 1 ps^{-1}). Integrační krok byl nastaven na 2 fs a počet kroků na 2500. Byl použit SHAKE algoritmus fixaci délek vazeb obsahující atomy vodíku.
- 500 ps NPT ekvilibrace s postupným ohříváním systému na 323 K s anizotropním škálováním tlaku. Cílový tlak 100 kPa byl udržován barostatem se slabou zpětnou



(a) Pohled z boku. Modrý gradient znázorňuje vodné prostředí, ve kterém se membrána nachází.

(b) Pohled z vrchu, voda není pro přehlednost zobrazena.

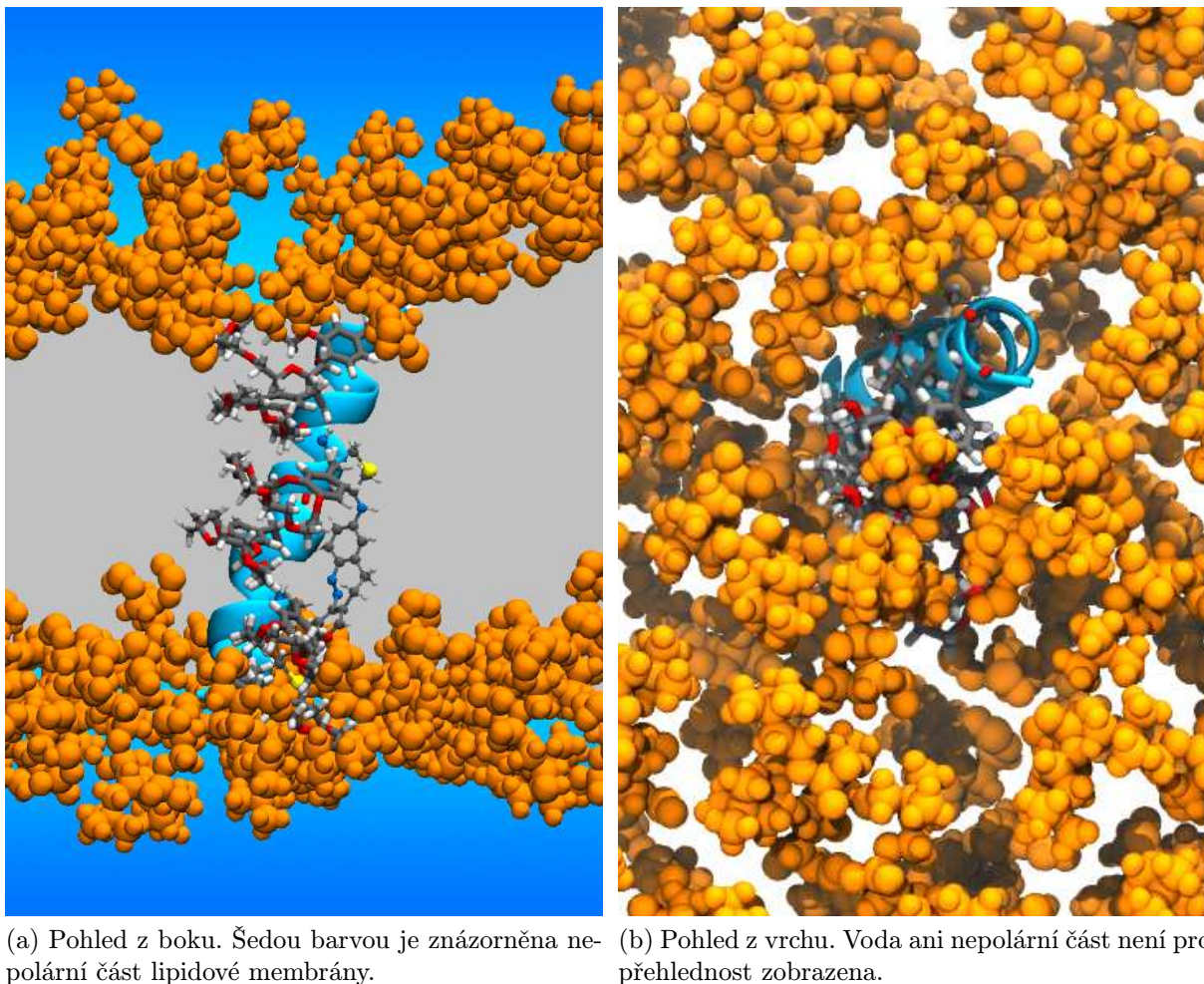
Obrázek 4.6: Pohled z boku a z vrchu na zabudovaný iontový kanál do membrány. Oranžovou barvou jsou zobrazeny polární konce membrány, zelenou barvou nepolární konce.

vazbou 2 ps. Ostatní parametry zůstaly stejné jako v předcházejícím kroku. Integrovaný krok byl nastaven na 2 fs.

- 500 ps produkční dynamika. Zároveň byla fixovaná voda s ionty, aby se zabránilo vnikání vody a iontu do membrány před jejím zacelením.
- 5 ns produkční dynamika s předchozími parametry bez fixace vody.

Po ekvilibraci a krátké produkční dynamice jsme obdrželi systém s teplotou 323 K. Nežádoucí mezera kolem iontového kanálu se zacelila, jak je vidět na obrázku 4.7.

Kromě zacelení mezery si můžeme povšimnout mírného naklonění kanálu. Tento fakt je v souladu s experimentálními hodnotami dostupnými z [17], kde předpovídají úhel naklonění kolem 30° v závislosti na použitém solventu.



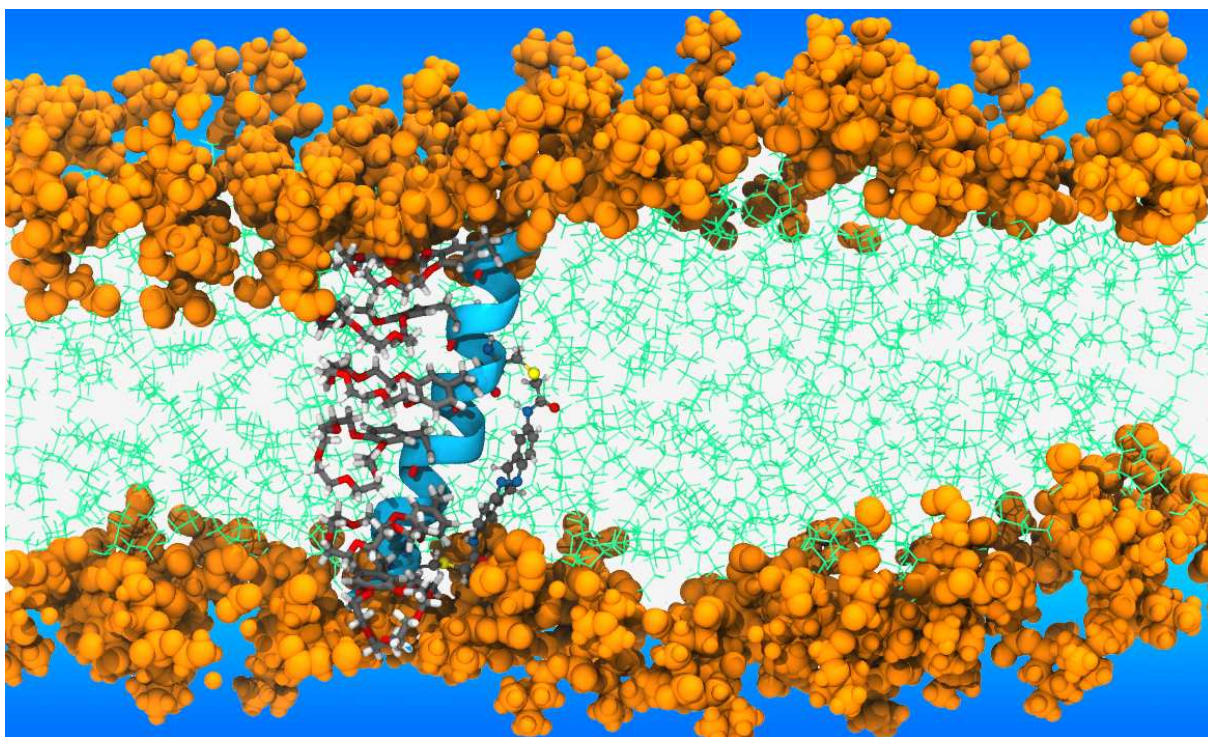
Obrázek 4.7: Pohled z boku a z vrchu na systém po ekvilibraci

4.1.6. Produkční dynamika

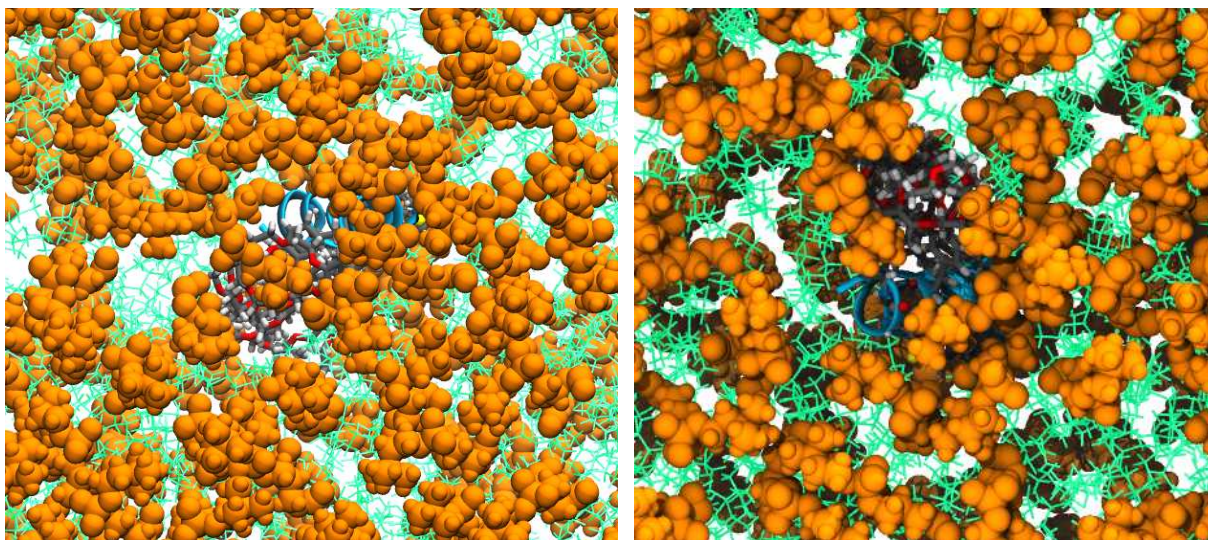
Závěrem této simulace jsme nechali systém vyvíjet v čase. Obrázek 4.8 ukazuje stav systému po 110 ns dlouhé simulaci. Po delším časovém vývoji došlo k částečnému zakrytí iontového kanálu polárními částmi lipidů, jak je patrné z obrázku 4.9. Vzhledem k tomu, že na povrchu membrány mohou ionty interagovat se záporně nabitými kyslíky polární části lipidové membrány podobně jako s crownetherovými kruhy tvořící iontový kanál, předpokládáme, že tato překážka nebude důvodem k úplné nefunkčnosti iontového kanálu. Toto vysvětlení by se však muselo doložit dalšími simulacemi, které by zkoumaly propustnost sodných nebo draselných iontů přes membránu. Tyto výpočty jsou však nad rámec naší práce a mohou být předmětem zkoumání v budoucnu.

Stabilita iontového kanálu

Dalším důležitým výsledkem je stabilita celé peptidové struktury. Obrázek 4.10 zachycuje 10 struktur iontového kanálu zobrazujících jeho změnu mezi 100. a 110. ns se vzorkováním



Obrázek 4.8: Iontový kanál v membráně po 110 ns produkční dynamice

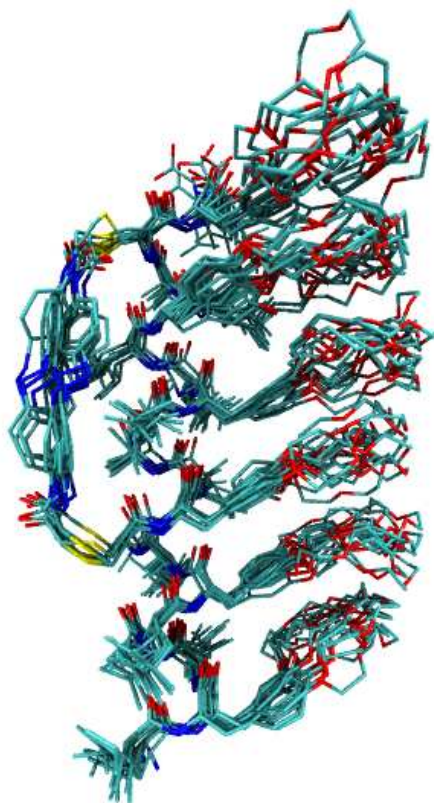


(a) Pohled zvrchu

(b) Pohled ze spodu

Obrázek 4.9: Pohled z vrchu a ze spodu (vůči obrázku 4.8) na iontový kanál.

1 ns. Je vidět, že celý peptidový řetězec si zachovává svou α -helikální strukturu, z čehož lze usoudit, že by přemostěný azobenzen mohl být navázaný v námi zvolených polohách.



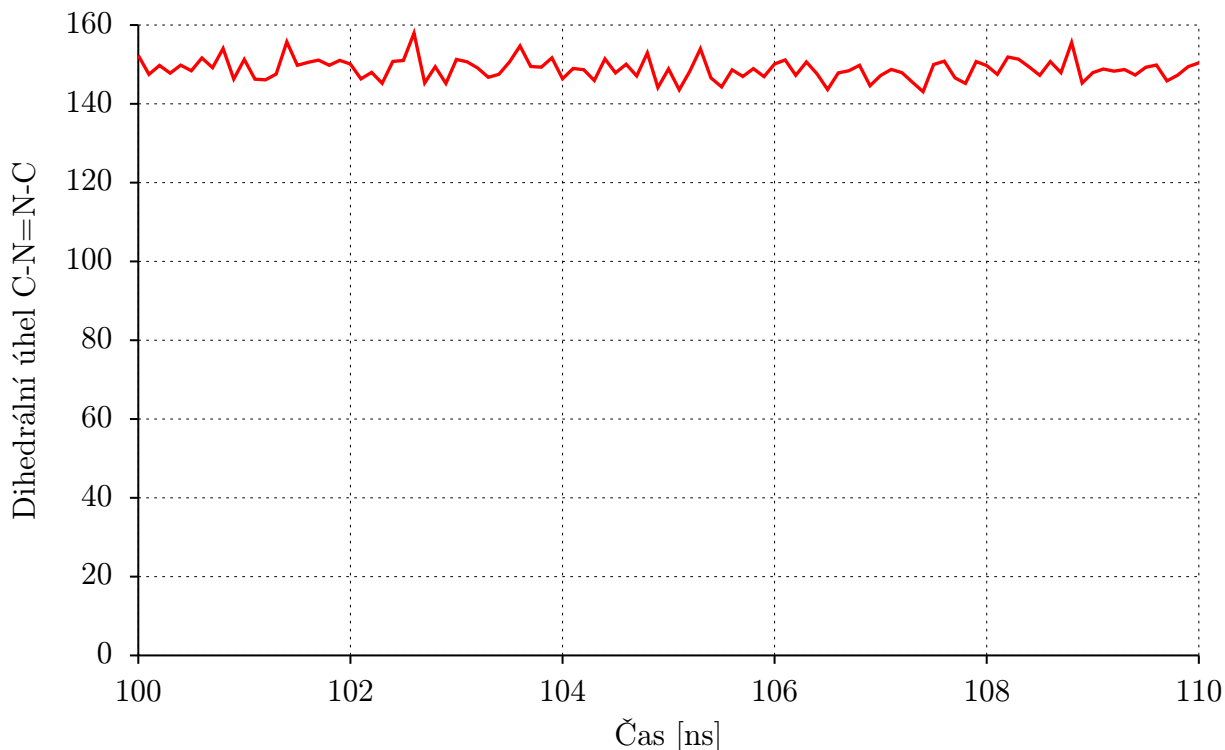
Obrázek 4.10: časový vývoj iontového kanálu mezi 100. a 110. ns produkční dynamiky

Stabilita přemostěného azobenzenu

Jako poslední důležitý výsledek zmíníme časový vývoj dihedrálního úhlu $C-N=N-C$ při použití reparametrizovaného silového pole. Obrázek Graf 4.11 znázorňuje závislost tohoto torzního úhlu na čase mezi 100. a 110. ns produkční dynamiky. Z grafu je patrné, že hodnota dihedrálního úhlu se pohybovala mezi 142° a 160° . Tento úhel odpovídá podle předchozích výsledků *E*-konformaci. Z toho lze usoudit, že se přemostěný azobenzen po celou dobu produkční dynamiky nepřepnul do druhé konformace, což je důležitý aspekt pro ovládání kanálu světlem. Jako téma na další práci se nabízí otázka, zda bude struktura iontového kanálu s *Z*-izomerem přemostěného azobenzenu také stabilní a jestli dojde k výraznému poklesu propustnosti iontů přes tuto teoreticky neaktivní formu.

4.2. Simulace AFM hrotu

Úkolem této části bylo připravit funkční model hrotu mikroskopu atomárních sil, na kterém by bylo možné sledovat vliv přítomnosti vody na adsorpční sílu působící mezi hrotem a povrchem. Jedním z úkazů, které zásadním způsobem ovlivňují velikost této síly, je vznik vodního menisku mezi hrotem a povrchem. Aby se mohl tento úkaz vytvořit, hrot i povrch musí být z hydrofilního materiálu. Dále jsou zapotřebí vhodné podmínky dané tlakem, teplotou, tvarem hrotu a relativní vlhkostí.



Obrázek 4.11: Graf závislosti dihedrálního úhlu C-N=N-C přemostěného azobenzenu na čase

V této práci budeme sledovat interakci modelu hrotu s rovným povrchem a tvorbu vodního menisku ve vakuu. Materiál hrotu a povrchu jsme zvolili protonovaný α -křemene, který je znám svým hydrofilním chováním.

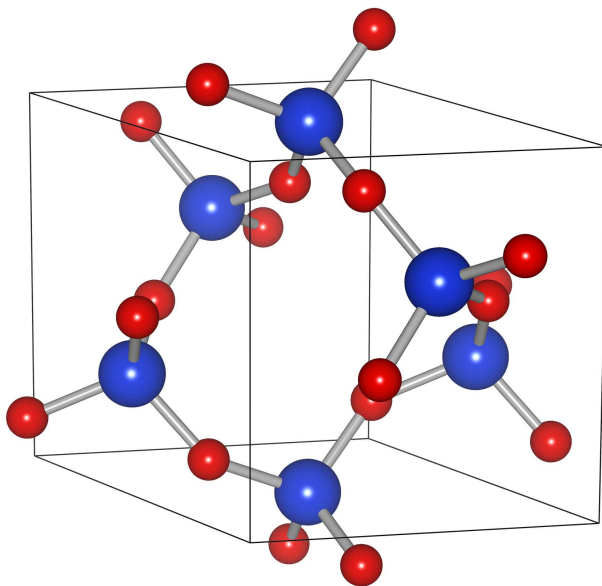
4.2.1. Vytvoření struktury hrotu

Nejdříve jsme museli vygenerovat kostku α -křemene, ze které byl hrot vymodelován. Jsou známa krystalografická data, která popisují strukturu elementární buňky α -křemene. Buňka má trigonální krystalografickou soustavu s parametry zobrazenými v tabulce 4.4, elementární buňka α -křemene je vidět na obrázku 4.12.

Parametr	Hodnota
$\alpha = \beta$	90°
γ	120°
a	4,9134 Å
c	5,4052 Å

Tabulka 4.4: Parametry trigonální soustavy α -křemene

Struktura elementární buňky byla vygenerována v programu Vesta, jenž umí umístit za sebou libovolný počet elementárních buněk a tím vytvořit materiál, ze kterého můžeme vy-

Obrázek 4.12: Elementární buňka α -křemene

říznout hrot. Vygenerovali jsme rovnoběžnostěn tohoto materiálu o délce zhruba 14x14x20 nm. Tento objekt jsme použili k dalšímu zpracování.

Vyříznutí hrotu

Materiál křemene vygenerovaný programem Vesta byl uložen v XYZ formátu, kde jsou všechny atomy popsány pomocí kartézských souřadnic. Do výstupního souboru pro program Amber potřebujeme navíc přidat informaci o vazbách mezi atomy.

Museli jsme tedy z α -křemene vyříznout hrot s následujícími vlastnostmi:

- Hrot bude vyřezán do tvaru kužele. Ideální AFM hrot je zakončen jedním atomem a pro studium vodního menisku se nabízí zhotovit model s co největší symetrií.
- Každý atom křemíku bude čtyřvazný. Uvnitř krystalu tomu tak je, na povrchu však ořez musel tuto skutečnost reflektovat, což úkol komplikovalo.
- Ve vytvořené struktuře je nadbytek atomů kyslíku. Aby byla struktura elektroneutrální, musely být některé atomy kyslíku protonovány. Stupeň protonace se může v experimentálních podmínkách měnit v závislosti na prostředí, ale v našem případě jsme se tímto problémem nezabývali.

Požadavky na strukturu hrotu jsou velmi specifické, proto jsme si napsali vlastní program na vyříznutí hrotu. K tomu jsme použili volně dostupnou knihovnu OpenBabel [38] napsanou v jazyce C++, která nabízí prostředí pro manipulaci s atomy, vazbami, molekulami, residui i vyššími celky.

Program Vesta nám vytvořil rovnoběžnostěn křemene, jehož atomy křemíku byly obklopeny i na povrchu čtyřmi kyslíky. Postup pro vygenerování správné struktury hrotu byl následující:

- Vytvoření vazeb mezi atomy, které mají mezi sebou vzdálenost menší, než 1,7 Å.
- Odstranění atomů křemíku, které se nevejdou do kužele. K určení kužele jsme zvolili poloměr podstavy a velikost vrcholového úhlu. Kužel byl orientován tak, aby střed podstavy ležel v počátku a vrchol kužele na ose z.
- Odstranění atomů kyslíku, které nemají žádnou vazbu. Tyto kyslíky se objevily ve struktuře po vymazání křemíků v předchozím bodu
- Rekurzivní odstranění atomů křemíků, které mají tři volné kyslíky. Z toho důvodu, abychom v konečné struktuře neměli terminální -O-(SiO₃) skupiny.
- Opět odstranění atomů kyslíku, které nemají žádnou vazbu.
- Přidání atomu vodíku ke kyslíku s jednou vazbou. Tyto atomy kyslíku se vyskytují na povrchu hrotu a vnáší na něj záporný náboj. Atomy vodíku byly umístěny k atomům kyslíku do vzdálenosti 1 Å ve směru vazby mezi kyslíkem a křemíkem. Jedná se o energeticky nevýhodnou geometrii, která však bude spravena při minimalizaci začátkem průběhu ekvilibrace.

Vyříznutí podložky

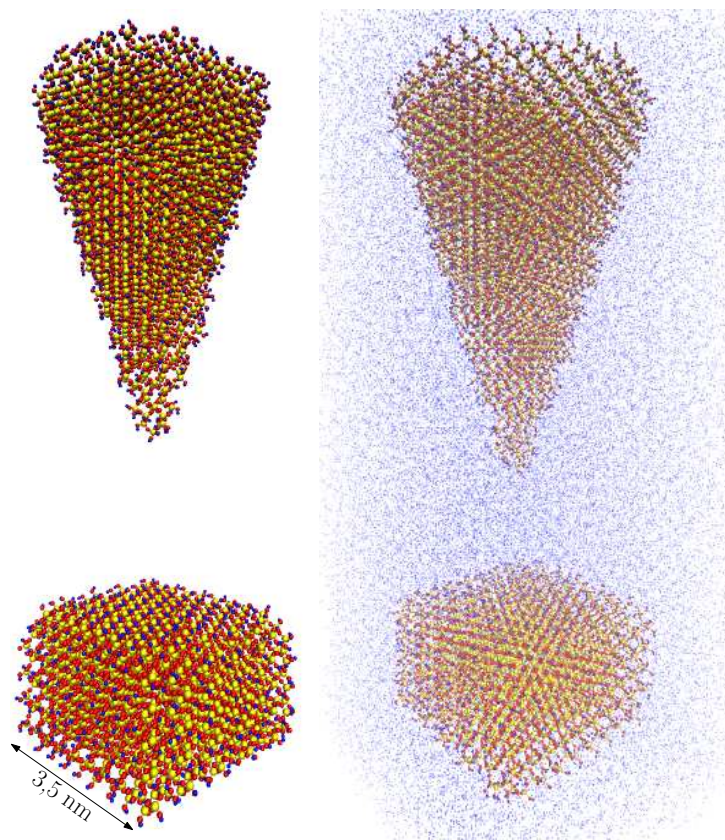
Jako materiál podložky byl také zvolen α -křemen. V tomto případě jsme potřebovali vygenerovat kvádr oxidu křemičitého, který bude na povrchu také protonován, aby byla celá struktura elektroneutralní. Základní struktura podložky byla vytvořena programem Vesta, který umožňuje provést ořez struktury podél definovaných rovin. Předpřipravená struktura byla dále upravena tak, aby se v ní vyskytovaly pouze atomy křemíku koordinované čtyřmi atomy kyslíku a zároveň, aby se na povrchu nevyskytovaly osamocené skupiny -O-(SiO₃). Struktura byla dále protonována na atomech kyslíku k zajištění elektroneutality podložky. Obrázek 4.13 ukazuje výsledné struktury hrotu a podložky přepsané do formátu programu Amber. Nakonec byl celý model zasolvatován modelem vody TIP3P [3], která je kompatibilní s použitým silovým polem pro křemen.

Parametry silového pole

Parametry i tvar silového pole byly převzaty z [39]. Správné chování vody na hydrofilním povrchu α -křemene bylo ověřeno autory. K výsledné struktuře jsme přidali silové pole obsahující příslušné náboje na atomech, parametry pro natahování a ohýbání vazeb a nevazebné interakce mezi atomy křemíku, kyslíku a vodíku.

4.2.2. Interakce hrotu s povrchem

Po vytvoření funkčního modelu bylo zapotřebí provést ekvilibraci systému na teplotu 300 K a tlak 100 kPa. Další podmínky pro simulace byly podobné jako v případě simulace fotocitlivého iontového kanálu, jen škálování tlaku bylo isotropní. Protože program Amber nemůže pracovat s nekonečným počtem atomů, musí být rozměry vstupního systému konečné. Tím pádem nastává problém okrajových podmínek, které definují, jak se atomy budou chovat na okraji systému. Pro náš model bychom chtěli definovat okrajové podmínky tak, aby odpovídaly vložení hrotu a podložky do vodného prostředí. To však není

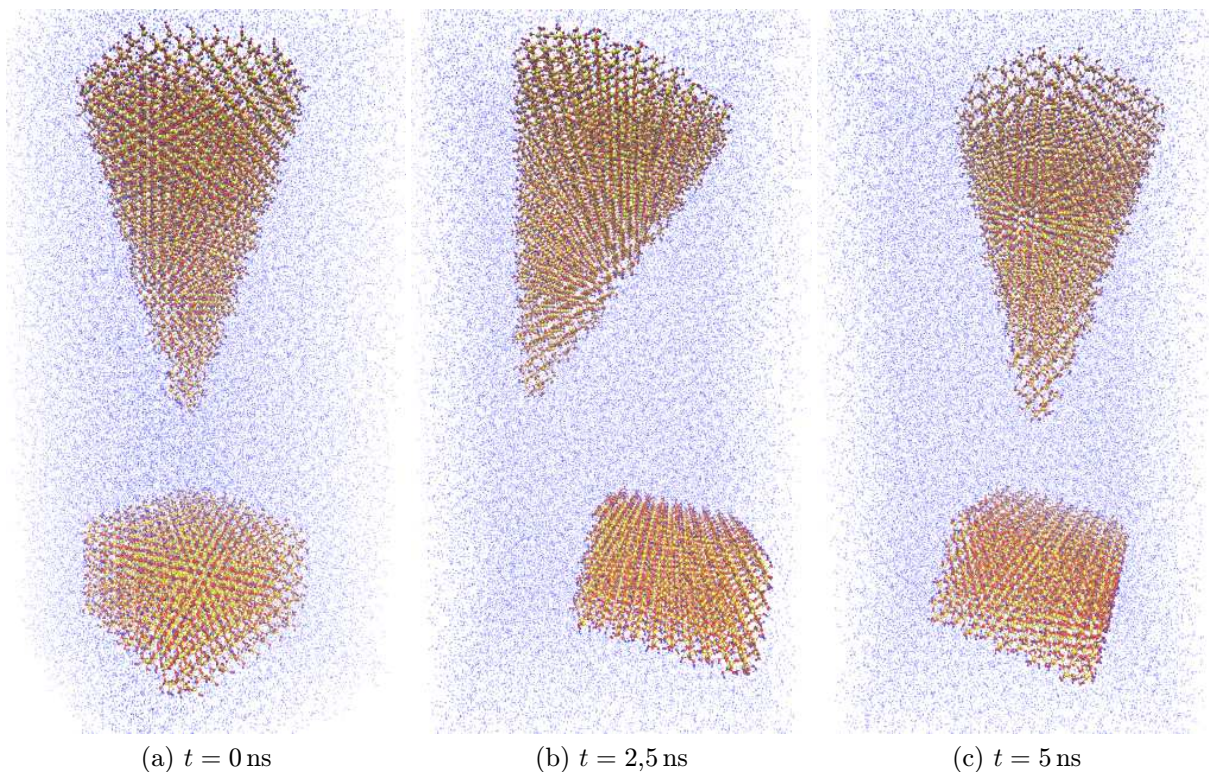


Obrázek 4.13: Vygenerované struktury AFM hrotu a podložky ve vodném prostředí.

lehká záležitost, ale nabízí se použít periodické okrajové podmínky. K nevýhodě tohoto kroku patří fakt, že rozměry systému, se kterým program Amber počítá, musí být dostatečně velké, aby se atomy hrotu a podložky v důsledku periodicity nedostaly příliš blízko k sobě.

Po ekvilibraci jsme obdrželi model systému obsahující hrot s podložkou ve vodném prostředí se známými počátečními podmínkami a mohli jsme spustit produkční dynamiku. Obrázek 4.14 ukazuje, jak se systém choval po spuštění produkční dynamiky. Jedním z důležitých výsledků je fakt, že si hrot i podložka uchovaly svoji strukturu. Tímto jsme kvalitativně ověřili silové pole a model hrotu i podložky. Již po krátké simulaci je však patrný jeden zásadní nedostatek. Hrot není fixován vůči podložce v ose z . Z tohoto důvodu se může hrot volně natáčet. V důsledku periodických okrajových podmínek pak hrot i podložka interagují z boku samy se sebou a vršek hrotu interaguje se spodkem podložky. Tím se dá vysvětlit, proč se tolik naklání.

Interakci hrotu se sebou samotným se dá částečně zbavit zvětšením rozměrů boxu, ve kterém se hrot bude nacházet. Interakce hrotu se sebou samým může být natolik slabá, že neovlivní výsledek simulace. Bohužel program Amber nedokáže jednoduchým způsobem zafixovat hrot v z -ové ose. Vyřešení tohoto problému by opět mohlo být předmětem zkoumání v navazující práci.



Obrázek 4.14: Vývoj systému hrot/podložka v čase.

4.2.3. Modelování vodního menisku

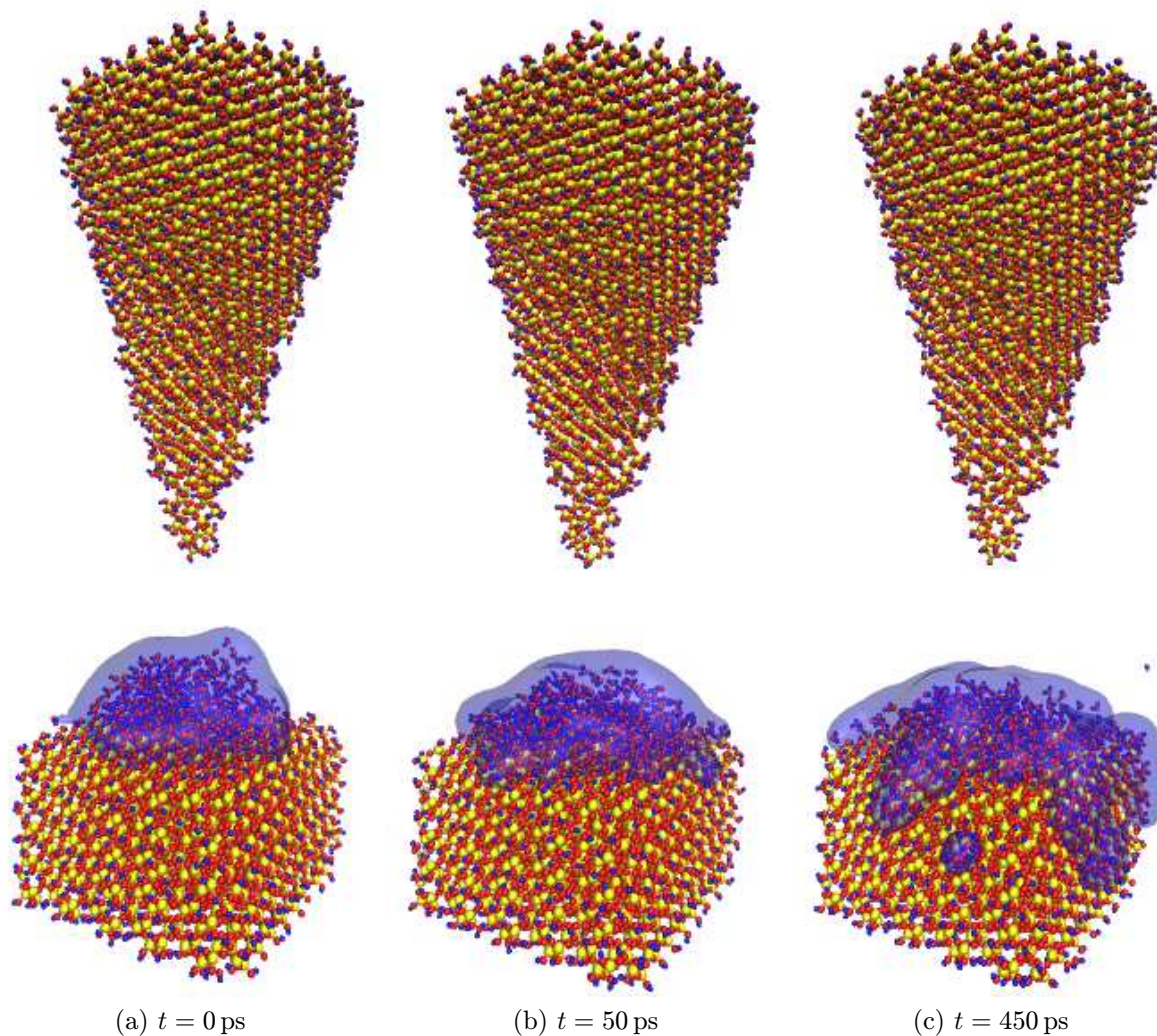
V poslední části modelování AFM hrotu se budeme zabývat interakcí kapky vody s povrchem křemene a tvorbě vodního menisku mezi hrotem a deskou.

Tvorba modelu

V programu Nemesis jsme ze solvovaného modelu hrotu a podložky odstranili molekuly vody, které měly od středu podložky vzdálenost větší, než 1,5 nm. Tím nám vznikla polokoule vody těsně nad povrchem křemenné podložky. Při NVT ekvilibraci na 300 K s podmínkou, aby atomy křemíku na vrchu hrotu a na spodku podložky byly fixované, se nám polokoule tvořená vodou začala pomalu rozpadat. Celý proces je znázorněn na obrázku 4.15a. Důvodem k tomuto chování bylo, že při rostoucí teplotě začala voda kolem teploty 273 K tát a mohla se volně pohybovat. Průběh ekvibrace tohoto modelu byl následující:

- Minimalizace geometrie v 3000 krocích za podmínky fixace vrchu hrotu a spodku podložky. Cut-off nezávislých interakcí byl ve všech bodech nastaven na 9 Å.
- 100 ps NVT ekvibrace na 300 K za fixace hrotu a podložky.
- Vývoj systému po dobu 500 ps za fixace hrotu a podložky.

Po velmi krátkém časovém vývoji se voda roztekla po povrchu kvádrů α -křemene, jak je vidět na obrázku 4.15. Chování vody opět dokazuje, že silové pole správně popisuje in-



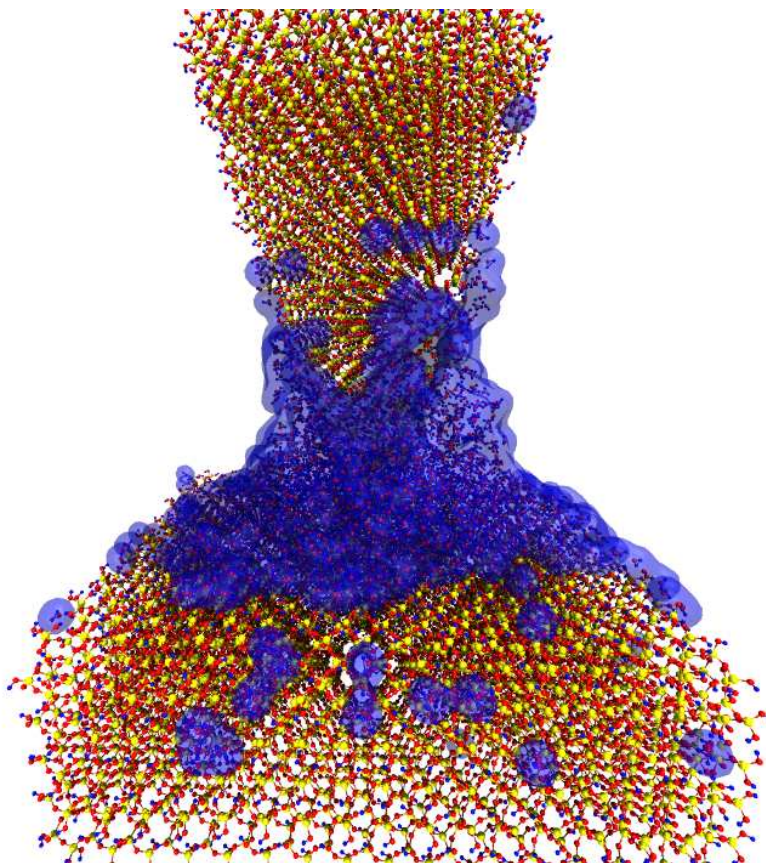
Obrázek 4.15: NVT ekvilibrace při 300 K

terakci vody s křemenem. Téměř žádná voda se neuvolnila z povrchu do volného prostoru, což kvalitativně dokazuje, že použitý model křemene je skutečně hydrofilní.

Pozorování vodního menisku

Nyní bylo potřeba přiblížit hrot k podložce na vzdálenost zhruba $3 \text{ \AA}$, abychom mohli pozorovat vznik vodního menisku. V předchozím modelu nebyla vrstva vody k tomuto účelu dostatečně velká, proto jsme nejprve zvětšili rozměry desky a zvětšili i poloměr vodní polokoule na 3 nm . Průběh ekvilibrace byl stejný jako v předchozím modelu.

Z obrázku 4.16 je jasně patrná tendence vzniku vodního menisku mezi křemenným hrotem a podložkou. Na tomto místě je však nutné poznamenat, že výsledek simulace nemá odraz ve skutečném experimentu. V celém postupu jsme nebrali v úvahu tlak, jehož zohlednění by přineslo některé komplikace a tak zůstává námětem na další pokračování. Za velmi důležitý výsledek této simulace můžeme označit pozorování vodního menisku, které značí, že námi sestavený model i použité silové pole jsou funkční, tudíž se může na projektu pokračovat v budoucnu.



Obrázek 4.16: NVT ekvibrace systému se zvětšenou podložkou

Na závěr jako další námět na pokračování uvedme skutečnost, že struktura křemenných AFM hrotů je amorfni. Předmětem zkoumání by také mohl být postup vygenerování amorfniho křemene, ze kterého by se hrot postupem vyvinutým během řešení této práce vymodeloval.

5. Závěr

Tato bakalářská práce je zaměřena na sestavení funkčních modelů fotocitlivého iontového kanálu a AFM hrotu a jejich simulace pomocí metod výpočetní chemie.

Prvním úkolem bylo nalezení sady nových parametrů torzního potenciálu k silovému poli GAFF, aby správným způsobem popisovaly fotocitlivý přepínač iontového kanálu - přemostěný azobenzen. Tento úkol se nám podařilo splnit pomocí metody UM06-2X-d3/def2-TZVPP, ze které jsme získali trénovací body pro reparametrizaci silového pole i rozložení elektrostatického potenciálu kolem molekuly. K určení rozložení nábojů na atomech byla použita RESP metoda a parametry pro torzní potenciál byly získány metodou Force matching. Aktivační energie vypočtená ze silového pole GAFF s našimi novými parametry se zvedla z 5,45 kcal/mol na 29,15 kcal/mol, což mnohem lépe odpovídá vypočtené hodnotě z DFT výpočtů.

Navazující úkol spočíval v sestavení iontového kanálu a umístění do lipidové dvouvrstvy. Nejprve jsme vybírali nejvhodnější místo na peptidovém řetězci pro navázání přemostěného azobenzenu. Tímto místem jsme zvolili 8. a 19. aminokyselinu leucin v sekvenci peptidového řetězce z důvodu vhodné vzdálenosti pro přemostěný azobenzen a vhodné polohy vzhledem ke crownetherovým kruhům.

Dále bylo potřeba ověřit, zda byl iontový kanál správně namodelován a zjistit, jak se bude chovat uvnitř lipidové membrány. Po vytvoření modelu iontového kanálu v lipidové dvouvrstvě a spuštění simulace jsme ověřili, že iontový kanál si zachoval svoji původní strukturu. Splnění tohoto předpokladu znamenalo, že místo napojení fotocitlivého přepínače na peptidový řetězec bylo vybráno správně. Zároveň jsme sledovali, zda sada námi nalezených parametrů silového pole zajistí větší stabilitu obou izomerů fotocitlivého přepínače. Zjistili jsme, že při 110 ns simulaci zůstal přepínač po celou dobu jako *E*-izomer, což je v souladu s teoretickými předpoklady.

Druhá část problematiky se týkala molekulárně dynamické simulace vodního menisku kolem AFM hrotu. Vytyčili jsme si za cíl sestavit model hrotu z α -křemene, na kterém bychom byli schopni sledovat interakci se vzorkem ve vodném prostředí nebo na vzduchu s danou relativní vlhkostí. Poslední část bakalářské práce je věnována postupu, jak jsme AFM hrot sestavovali. Pro tento úkol jsme převzali z literatury silové pole vhodné pro sledování interakce křemene s vodou. Model hrotu byl vygenerován pomocí námi napsaného programu v C++ používající knihovnu OpenBabel. Na závěr jsme jednoduchými simulacemi ověřovali, jak bude hrot popsáný použitým silovým polem interagovat s vodou. Zjistili jsme, že se hrot skutečně chová hydrofilně a při sestavení modelu obsahujícím hrot i podložku jsme vznik vodního menisku pozorovali.

V průběhu řešení projektu mě napadlo několik velmi zajímavých námětů na pokračování a rozvíjení této práce. Z dosažených výsledků bychom mohli například sledovat průchod iontů přes iontový kanál a zdokonalovat jeho účinnost a selektivnost. Dalším příkladem bylo simulování uzavřené formy iontového kanálu. To by znamenalo navázat na peptidový řetězec *Z*-izomer přemostěného azobenzenu a sledovat vlastnosti iontového kanálu nebo v průběhu krátké simulace za použití metody SCD přechod z jednoho izomeru do druhého vynutit.

Simulace AFM hrotu se vznikajícím vodním meniskem obsahuje velmi důležité výsledky pro další sledování této zajímavé interakce. V dalším kroku bude potřeba vyřešit problém fixace hrotu a sestavit model, který by uvažoval chování systému v atmosférických podmínkách.

Literatura

- [1] NGO, Van A., Rajiv K. KALIA, Aiichiro NAKANO a Priya VASHISHTA. Supercrystals of DNA-Functionalized Gold Nanoparticles: A Million-Atom Molecular Dynamics Simulation Study. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2012-09-13, vol. 116, issue 36, s. 19579-19585. DOI: 10.1021/jp306133v. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp306133v>
- [2] D.A. Case, J.T. Berryman, R.M. Betz, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, T.A. Darden, R.E. Duke, T.J. Giese, H. Gohlke, A.W. Goetz, N. Homeyer, S. Izadi, P. Janowski, J. Kaus, A. Kovalenko, T.S. Lee, S. LeGrand, P. Li, T. Luchko, R. Luo, B. Madej, K.M. Merz, G. Monard, P. Needham, H. Nguyen, H.T. Nguyen, I. Omelyan, A. Onufriev, D.R. Roe, A. Roitberg, R. Salomon-Ferrer, C.L. Simmerling, W. Smith, J. Swails, R.C. Walker, J. Wang, R.M. Wolf, X. Wu, D.M. York and P.A. Kollman (2015), AMBER 2015, University of California, San Francisco.
- [3] SALOMON-FERRER, Romelia, David A. CASE a Ross C. WALKER. An overview of the Amber biomolecular simulation package. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*. 2013, vol. 3, issue 2, s. 198-210. DOI: 10.1002/wcms.1121. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/wcms.1121>
- [4] LEACH, Andrew R. *Molecular Modelling: Principles and applications*. 2nd ed. Harlow: Prentice Hall, 2001, 744 s. ISBN 05-823-8210-6.
- [5] WANG, Junmei, Romain M. WOLF, James W. CALDWELL, Peter A. KOLLMAN a David A. CASE. Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry*. 2004-07-15, vol. 25, issue 9, s. 1157-1174. DOI: 10.1002/jcc.20035. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcc.20035>
- [6] MAURER, Patrick, Alessandro LAIO, Håkan W. HUGOSSON, Maria Carola COLOMBO a Ursula ROTH LISBERGER. Automated Parametrization of Biomolecular Force Fields from Quantum Mechanics/Molecular Mechanics (QM/MM) Simulations through Force Matching. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2007, vol. 3, issue 2, s. 628-639. DOI: 10.1021/ct600284f. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ct600284f>
- [7] KOCH, Wolfram a Max HOLTHAUSEN. *A chemist's guide to density functional theory*. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2002, xiii, 300 s. ISBN 35-273-0422-3.
- [8] PARR, Robert G a Weitao YANG. *Density-functional theory of atoms and molecules*. New York: Oxford University Press, c1989, ix, 333 p. International series of monographs on chemistry, 16. ISBN 01-950-9276-7.
- [9] SKÁLA, Lubomír. *Kvantová teorie molekul*. 1. vyd. Praha: Univerzita Karlova, 1994, 232 s. ISBN 80-718-4007-6.
- [10] HOHENBERG, P. a W. KOHN. Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review*. 1964, vol. 136, 3B, B864-B871. DOI: 10.1103/PhysRev.136.B864. Dostupné z: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.136.B864>

- [11] ZHAO, Yan a Donald G. TRUHLAR. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theoretical Chemistry Accounts*. 2008, vol. 120, 1-3, s. 215-241. DOI: 10.1007/s00214-007-0310-x. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00214-007-0310-x>
- [12] HEHRE, W. J. Self—Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian—Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. *The Journal of Chemical Physics*. 1972, vol. 56, issue 5, s. 2257-. DOI: 10.1063/1.1677527. Dostupné z: <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jcp/56/5/10.1063/1.1677527>
- [13] WEIGEND, Florian a Reinhart AHLRICHS. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2005, vol. 7, issue 18, s. 3297-. DOI: 10.1039/b508541a. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b508541a>
- [14] SISSON, Adam L., Muhammad Raza SHAH, Sheshanath BHOSALE a Stefan MATILE. Synthetic ion channels and pores (2004?2005). *Chemical Society Reviews*. 2006, vol. 35, issue 12, s. 1269-. DOI: 10.1039/b512423a. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b512423a>
- [15] FYLES, Thomas M. Synthetic ion channels in bilayer membranes. *Chem. Soc. Rev.* 2007, vol. 36, issue 2, s. 335-347. DOI: 10.1039/B603256G. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B603256G>
- [16] TABUSHI, Iwao, Yasuhisa KURODA a Kanichi YOKOTA. A,B,D,F-tetrasubstituted beta-cyclodextrin as artificial channel compound. *Tetrahedron Letters*. 1982, vol. 23, issue 44, s. 4601-4604. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)85664-6. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040403900856646>
- [17] OTIS, François, Michèle AUGER a Normand VOYER. Exploiting Peptide Nanostructures To Construct Functional Artificial Ion Channels. *Accounts of Chemical Research*. 2013-12-17, vol. 46, issue 12, s. 2934-2943. DOI: 10.1021/ar400044k. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar400044k>
- [18] SAMANTA, Subhas, Chuanguang QIN, Alan J. LOUGH a G. Andrew WOOLLEY. Bidirectional Photocontrol of Peptide Conformation with a Bridged Azobenzene Derivative. *Angewandte Chemie International Edition*. 2012-06-25, vol. 51, issue 26, s. 6452-6455. DOI: 10.1002/anie.201202383. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201202383>
- [19] BLANCO-LOMAS, Marina, Subhas SAMANTA, Pedro J. CAMPOS, G. Andrew WOOLLEY a Diego SAMPEDRO. Reversible Photocontrol of Peptide Conformation with a Rhodopsin-like Photoswitch. *Journal of the American Chemical Society*. 2012-04-25, vol. 134, issue 16, s. 6960-6963. DOI: 10.1021/ja301868p. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja301868p>

- [20] LIU, Lihong, Shuai YUAN, Wei-Hai FANG a Yong ZHANG. Probing Highly Efficient Photoisomerization of a Bridged Azobenzene by a Combination of CASPT2//CASSCF Calculation with Semiclassical Dynamics Simulation. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2011-09-08, vol. 115, issue 35, s. 10027-10034. DOI: 10.1021/jp203704x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp203704x>
- [21] BINNIG, G., C. F. QUATE a Ch. GERBER. Atomic Force Microscope. *Physical Review Letters*. 1986, vol. 56, issue 9, s. 930-933. DOI: 10.1103/PhysRevLett.56.930. Dostupné z: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.56.930>
- [22] ČERVENKA, Jiří, Radek KALOUSEK, Miroslav BARTOŠÍK, David ŠKODA, Ondřej TOMANEC a Tomáš ŠIKOLA. Fabrication of nanostructures on Si(100) and GaAs(100) by local anodic oxidation. *Applied Surface Science*. 2006, vol. 253, issue 5, s. 2373-2378. DOI: 10.1016/j.apsusc.2006.03.095. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016943320600643X>
- [23] JANG, Joonkyung, Mino YANG a George SCHATZ. Microscopic origin of the humidity dependence of the adhesion force in atomic force microscopy. *The Journal of Chemical Physics*. 2007, vol. 126, issue 17, s. 174705-. DOI: 10.1063/1.2734548. Dostupné z: <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jcp/126/17/10.1063/1.2734548>
- [24] PINER, R. D. "Dip-Pen" Nanolithography. *Science*. vol. 283, issue 5402, s. 661-663. DOI: 10.1126/science.283.5402.661. Dostupné z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.283.5402.661>
- [25] GINGER, David S., Hua ZHANG a Chad A. MIRKIN. The Evolution of Dip-Pen Nanolithography. *Angewandte Chemie International Edition*. 2004, vol. 43, issue 1, s. 30-45. DOI: 10.1002/anie.200300608. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200300608>
- [26] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, a D. J. Fox, *Gaussian 09*, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- [27] Marcus D Hanwell, Donald E Curtis, David C Lonie, Tim Vandermeersch, Eva Zurek and Geoffrey R Hutchison; "Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform" *Journal of Cheminformatics* 2012, 4:17.

- [28] KULHÁNEK, Petr, Jakub Štěpán, Milan Lenčo, Jiří Kratochvíla, Petr Balík a Aleš Křenek (2013), Nemesis - A molecular Modelling Package, Masaryk University, Brno.
- [29] MOMMA, Koichi a Fujio IZUMI. VESTA 3 for three-dimensional visualization of crystal, volumetric and morphology data. *Journal of Applied Crystallography*. 2011, vol. 44, issue 6, s. 1272-1276. DOI: 10.1107/S0021889811038970. Dostupné z: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0021889811038970>
- [30] Humphrey, W., Dalke, A. and Schulten, K., "VMD - Visual Molecular Dynamics", J. Molec. Graphics, 1996, vol. 14, pp. 33-38.
- [31] CEMBRAN, Alessandro, Fernando BERNARDI, Marco GARAVELLI, Laura GAGLIARDI a Giorgio ORLANDI. On the Mechanism of the cis–trans Isomerization in the Lowest Electronic States of Azobenzene: S₀, S₁, and T₁. *Journal of the American Chemical Society*. 2004, vol. 126, issue 10, s. 3234-3243. DOI: 10.1021/ja038327y. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja038327y>
- [32] GRIMME, Stefan, Jens ANTONY, Stephan EHRLICH a Helge KRIEG. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu. *The Journal of Chemical Physics*. 2010, vol. 132, issue 15, s. 154104-. DOI: 10.1063/1.3382344. Dostupné z: <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jcp/132/15/10.1063/1.3382344>
- [33] GRIMME, Stefan, Stephan EHRLICH a Lars GOERIGK. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *Journal of Computational Chemistry*. 2011, vol. 32, issue 7, s. 1456-1465. DOI: 10.1002/jcc.21759. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcc.21759>
- [34] MATTHIES, Hermann a Gilbert STRANG. The solution of nonlinear finite element equations. *International Journal for Numerical Methods in Engineering*. 1979, vol. 14, issue 11, s. 1613-1626. DOI: 10.1002/nme.1620141104. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/nme.1620141104>
- [35] BAYLY, Christopher I., Piotr CIEPLAK, Wendy CORNELL a Peter A. KOLLMAN. A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model. *The Journal of Physical Chemistry*. 1993, vol. 97, issue 40, s. 10269-10280. DOI: 10.1021/j100142a004. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100142a004>
- [36] DICKSON, Callum J., Benjamin D. MADEJ, Åge A. SKJEVIK, Robin M. BETZ, Knut TEIGEN, Ian R. GOULD a Ross C. WALKER. Lipid14: The Amber Lipid Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2014-02-11, vol. 10, issue 2, s. 865-879. DOI: 10.1021/ct4010307. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ct4010307>
- [37] JOUNG, In Suk a Thomas E. CHEATHAM,. Determination of Alkali and Halide Monovalent Ion Parameters for Use in Explicitly Solvated Biomolecular Simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2008, vol. 112, issue 30, s. 9020-9041. DOI: 10.1021/jp8001614. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp8001614>

- [38] O'BOYLE, Noel M, Michael BANCK, Craig A JAMES, Chris MORLEY, Tim VANDERMEERSCH a Geoffrey R HUTCHISON. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*. 2011, vol. 3, issue 1, s. 33-. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33. Dostupné z: <http://www.jcheminf.com/content/3/1/33>
- [39] EMAMI, Fateme S., Valeria PUDDU, Rajiv J. BERRY, Vikas VARSHNEY, Siddharth V. PATWARDHAN, Carole C. PERRY a Hendrik HEINZ. Force Field and a Surface Model Database for Silica to Simulate Interfacial Properties in Atomic Resolution. *Chemistry of Materials*. 2014-04-22, vol. 26, issue 8, s. 2647-2658. DOI: 10.1021/cm500365c. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cm500365c>

6. Seznam použitých zkratek

AFM mikroskopie atomárních sil – Atomic Force Microscopy

CGTO kontrahované orbitaly Gaussova typu – Contracted Gaussian Type Orbitals

DNA kyselina deoxyribonukleová – DeoxyriboNucleic Acid

DFT teorie funkcionálu hustoty – Density Functional Theory

DPN dip-pen nanolitografie – Dip-Pen Nanolitography

DPPC DiPalmitoylPhosphatidylCholin – DiPalmitoylPhosphatidylCholine

GAFF silové pole pro organické molekuly – General Amber Force Field

GTO orbitaly Gaussova typu – Gaussian Type Orbitals

AFM mikroskopie atomárních sil – Atomic Force Microscopy

LAO lokální anodická oxidace – Local Anodic Oxidation

MD Molekulární dynamika – Molecular Dynamics

MM Molekulová mechanika – Molecular Mechanics

NPT konstantní počet částic, tlak a teplota – constant Number of particles, Pressure and Temperature

NVT konstantní počet částic, objem a teplota – constant Number of particles, Velocity and Temperature

QM Kvantová mechanika – Quantum mechanics

RESP Restrained Electrostatic Potential

SEM rastrovací elektronový mikroskop – Scanning Electron Microscope

SCD Single Coordinate Driving

STO orbitaly Slaterova typu – Slater Type Orbitals

SIMS hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů – Secondary Ion Mass Spectrometry

XPS rentgenová fotoelektronová spektroskopie – X-ray Photoelectron Spectroscopy

7. Seznam příloh

Na přiloženém CD je program použitý na oříznutí hrotu, modely vybraných struktur a nové parametry silového pole popisující dihedrální úhel C-N=N-C přemostěného azobenzenu.