

- 1) „*par-1*, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed“: S. Guo, K. J. Kemphues, *Cell* 1995, 81, 611.
- 2) „Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*“: A. Fire, S. Xu, M. K. Montgomery, S. A. Kostas, S. E. Driver, C. C. Mello, *Nature* 1998, 391, 806.
- 3) „RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs“: S. M. Elbashir, W. Lendeckel, T. Tuschl, *Genes Dev* 2001, 15, 188.
- 4) „Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells“: S. M. Elbashir, J. Harborth, W. Lendeckel, A. Yalcin, K. Weber, T. Tuschl, *Nature* 2001, 411, 494.
- 5) „MicroRNA maturation, stepwise processing and subcellular localization“: Y. Lee, K. Jeon, J. T. Lee, S. Kim, V. N. Kim, *EMBO J.* 2002, 21, 4663.
- 6) „An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*“: N. C. Lau, L. P. Lim, E. G. Weinstein, D. P. Bartel, *Science* 2001, 294, 858.
- 7) „Identification of novel genes coding for small expressed RNAs“: M. Lagos-Quintana, R. Rauhut, W. Lendeckel, T. Tuschl, *Science* 2001, 294, 853.
- 8) „New micro RNAs from mouse and human“: M. Lagos-Quintana, R. Rauhut, J. Meyer, A. Borkhardt, T. Tuschl, *RNA*, im Druck.
- 9) „Technology evaluation, fomivirsen, Isis Pharmaceuticals Inc/CIBA vision“: R. M. Orr, *Curr. Opin. Mol. Ther.* 2001, 3, 288.
- 10) „Blocking oncogenes in malignant cells by RNA interference – New hope for a highly specific cancer treatment?“: A. Borkhardt, *Cancer Cell* 2002, 2, 167.
- 11) „Stable suppression of tumorigenicity by virus-mediated RNA interference“: T. Brummelkamp, R. Bernards, R. Agami, *Cancer Cell* 2002, 2, 243.
- 12) „RNA interference – a new weapon against HIV and beyond“: M. Kitabwalla, R. M. Ruprecht, *New Engl. J. Med.* 2002, 347, 1364.
- 13) „siRNA-directed inhibition of HIV-1 infection“: C. D. Novina, M. F. Murray, D. M. Dykxhoorn, P. J. Beresford, J. Riess, S. K. Lee, R. G. Collman, J. Lieberman, P. Shankar, P. A. Sharp, *Nat. Med.* 2002, 8, 681.
- 14) „Phenotypic silencing of cytoplasmic genes using sequence-specific double-stranded short interfering RNA and its application in the reverse genetics of wild type negative-strand RNA viruses“: V. Bitko, S. Barik, *BMC Microbiol* 2001, 1, 34.
- 15) „Short interfering RNA confers intracellular antiviral immunity in human cells“: L. Gitlin, S. Karelsky, R. Andino, *Nature* 2002, 418, 430.

FRET in der Biochemie

◆ Eine der vielversprechendsten spektroskopischen Techniken für die Analyse von Biopolymeren in Aktion und in Interaktion analysiert den Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer, kurz FRET. Die hohe Spezifität des FRET-Signals ermöglicht die Beobachtung molekularer Wechselwirkungen und Veränderungen der Konformation mit hoher zeitlicher (<1 ns) und räumlicher Auflösung (1–10 nm)¹⁾ und lässt sich auch mit Einzelmolekül-Detektionstechniken kombinieren.²⁾ FRET-Mikroskopie ist darüber hinaus eine exzellente Methode, um zelluläre Strukturen sowie Proteine unter physiologischen Bedingungen zu lokalisieren und abzubilden. Dies bedeutet einen signifikanten Vorteil gegenüber Röntgenbeugungsmethoden oder Elektronenmikroskopie, bei denen die zu untersuchenden Proben aus ihrem physiologischen Kontext entfernt bzw. fixiert werden müssen.

Was ist FRET?

◆ FRET ist ein erstmals 1948 von Theodor Förster beschriebener, quantenmechanischer Prozess, bei dem ein strahlungsloser Energietransfer von einem Donor- zu einem Acceptorchromophor erfolgt, wenn das Emissionsspektrum des Donors mit dem Anregungsspektrum des Acceptors hinreichend überlappt, die beiden Farbstoffe sich in räumlicher Nähe befinden (10–100 Å) und ihre Übergangsdipolmomente annähernd parallel orientiert sind. Lubert Stryer und Richard Haugland bestätigten 1967 eine wichtige Aussage der Theorie Försters, als sie demonstrierten, daß die Effizienz des FRET-Effekts umgekehrt proportional zur sechsten Potenz des Abstands R_0 der beiden Chromophore und damit nützlich im Bereich der Dimensionen biologischer Makromoleküle ist.³⁾ Eine Messung des FRET-Effekts ist vor allem dann wertvoll, wenn Phänomene untersucht werden sollen, die mit einer Änderung molekularer Abstände einhergehen. FRET wird deshalb auch als „spektroskopisches Lineal“ bezeichnet.

Donor-Acceptor-Paare

◆ In den meisten Fällen dienen verschiedene Chromophore als Donor und Acceptor, so daß ein FRET-Signal entweder als Auftreten Donorstimulierter Fluoreszenz des Acceptors oder als Löschung der Fluoreszenz des Donors aufgezeichnet werden kann. Alternativ setzt man aber auch als Donor und Acceptor denselben Farbstoff ein und detektiert dann die resultierende Depolarisation der Fluoreszenz. Gelegentlich ist es sinnvoll, ein unerwünschtes Hintergrundsignal durch Nicht-FRET-stimulierte Fluoreszenz des Acceptors zu unterdrücken; dies gelingt mit nicht-fluoreszierenden Acceptoren. Für Übersichten über gebräuchliche Donor-Acceptor-Paare siehe Lit.^{4,5)}

Mit den 1997 eingeführten „Big Dyes“ als Markierungen von Kettenabbruchnucleotiden für die automatische DNA-Sequenzierung⁶⁾ wurden FRET-Fluorophore in kurzer Zeit unentbehrlich – vor allem für die großen Genomprojekte. Die Popularität von FRET-Messungen steigt seitdem ständig an, was wiederum die Entwicklung geeigneter Chromophore stimulierte. Mittlerweile sind diese für den Spektralbereich von 350–750 nm, d. h. von Ultraviolett bis Infrarot, verfügbar (z. B. Alexa Fluor Dyes von Molecular Probes, oder CyDyes von Amersham Pharmacia). Von diesen sind insbesondere die IR-Farbstoffe von großem Interesse, weil sie die direkte Detektion in lebenden Organismen nahezu ohne störende

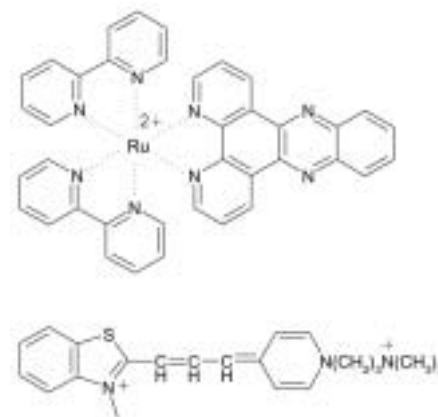


Abb. 1. Strukturen des FRET-Donors $[Ru(bpy)_2(dppz)]^{2+}$ (Gegenion PF_6^-) und des FRET-Acceptors BO-PRO-3 (Gegenion Γ^-).

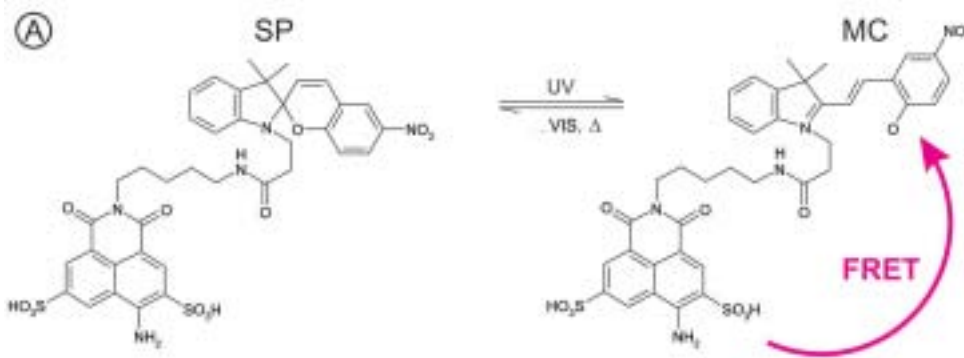
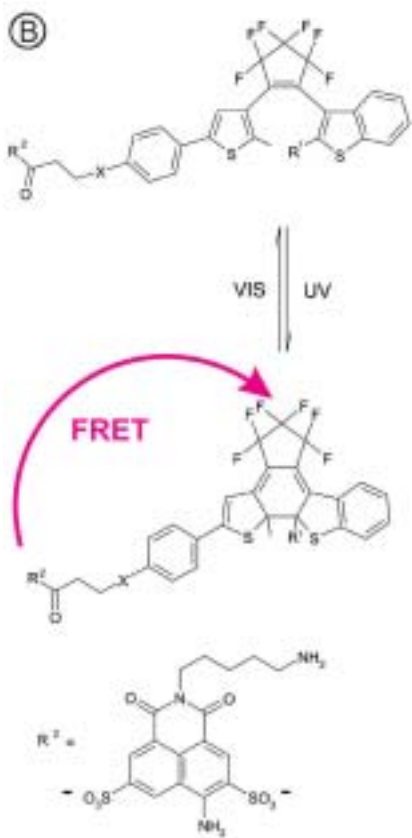


Abb. 2. (A) Strukturen des photochromen FRET-Paars LYC-BIPS. Der Donor LYC ist über eine Amidbindung kovalent an den photochromen Acceptor 6-Nitro-BIPS gebunden. Dessen Spiroform (SP) geht durch Bestrahlung im Nah-UV in die farbige Merocyanin(MC)-Form über, die als Acceptor von LYC fungiert. (B) Weitere Modellverbindungen für photochromen FRET. $R^1 = \text{Me}$, OMe ; $R^2 = \text{Lucifer Yellow Cadaverine (LYC)}$; $X = \text{C(O)NH}_2$, CH_2 .



Hintergrundfluoreszenz ermöglichen. Aufgrund ihrer hohen Extinktionskoeffizienten emittieren rote und Nah-Infrarot-Farbstoffe oftmals recht stark, weisen als Konsequenz aber auch nur geringe Fluoreszenzlebensdauern ($< 4 \text{ ns}$) auf. Joseph Lakowicz arbeitet deshalb an FRET-Paaren aus einem Donor mit langer Fluoreszenzlebensdauer und geringer Quantenausbeute sowie einem rot-emittierenden Acceptor mit kurzer Lebensdauer, aber hoher Quantenausbeute (Abbildung 1). Mit einem lumineszenten Übergangsmetall-

komplex als Donor machte er nicht nur ein relativ breites Spektrum an Absorptions- und Emissionswellenlängen, sondern auch große Fluoreszenzlebensdauern von 100 ns bis $10 \mu\text{s}$ zugänglich.⁷⁾ An die Stelle von Übergangsmetallkomplexen könnten lumineszente Halbleiter-Quantenpunkte (QDs, quantum dots) wie CdSe oder CdTe als Donor treten, deren Absorptionsspektren größenabhängig durchstimbar und deren Emissionsspektren schmal und symmetrisch sind.⁸⁾

An einer anderen, speziell für die FRET-Mikroskopie interessanten Entwicklung arbeiten Thomas Jovin und Elizabeth Jares-Erijman: Sie beschreiben photochrome Acceptoren, die erst durch lichtinduzierte Isomerisierung zu einem stimulierbaren Acceptor werden, der thermisch oder photochemisch (bei einer anderen Wellenlänge als der für die Hinreaktion) wieder in die nicht-fluoreszierende Form überführt werden kann (Abbildung 2). Im Idealfall ist diese Reaktion über einen längeren Zeitraum reversibel „schaltbar“ und ermöglicht die wiederholte Messung des FRET-Effekts (Vermeidung des Photobleichens) mit einem internen Standard (Acceptorfluoreszenz-freies Signal des Donors).^{9,10)}

Die Idee des Resonanz-Energie-Transfers (RET) lässt sich natürlich auch auf fluoreszente oder lumineszente Proteine als Chromophore übertragen (Biolumineszenz-RET, BRET). BRET ist ein natürliches Phänomen, das sich beispielsweise beim See-

stiefmütterchen (*Renilla reniformis*; ein achtstrahliges Blumentier) beobachten lässt: Dieser Organismus ist mit dem Enzym Luciferase ausgestattet, das Coelenterazin (Luciferin) unter Emission von Licht der Wellenlänge 480 nm oxidiert. Das im Seestiefmütterchen gleichzeitig vorhandene „Grün Fluoreszierende Protein“ (GFP) wird durch dieses Licht direkt angeregt und emittiert dann Fluoreszenz bei 509 nm .^{11,12)}

Die fluoreszente Markierung von Proteinen durch Proteine ist schon deshalb sehr reizvoll, weil sie bereits auf genetischer Ebene erfolgen kann – durch Codierung von Fusionsproteinen. „Lebende Farben“¹³⁾ sind also prädestiniert für Untersuchungen in vivo.

Verfolgung biochemischer Reaktionen – in Echtzeit und im Hochdurchsatz

◆ In der molekularen Diagnostik spielen einfache und reproduzierbar durchführbare Assays zum Nachweis bestimmter Gene oder bestimmter Mutationen wie Basensubstitutionen, Duplikationen oder Deletionen eine große Rolle. In zunehmendem Maße wird für diese Analytik die „Real-time-PCR“, d. h. die quantitative Verfolgung der Entstehung von Amplifikationsprodukten aus der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in Echtzeit eingesetzt. Der quantitative DNA-Nachweis gelingt entweder durch Nucleinsäure-spezifische Farbstoffe oder durch verschiedene FRET-Techniken, bei denen fluoreszierend markierte Primer oder molecular beacons („molekulare Leuchtfener“), eingesetzt werden. Als molecular beacons bezeichnet man Oligonucleotide, die an einem Ende einen Fluoreszenzfarbstoff, und am anderen Ende einen Quencher, d. h. einen nicht-fluoreszierenden Acceptorfarbstoff, tragen. Die Sequenz dieser Oligonucleotide ist so gewählt, daß sich eine stabile Haarnadelstruktur bildet, in der Fluorophor und Quencher aufgrund räumlicher Nähe ein nicht-fluoreszierendes FRET-Paar bilden. Durch Hybridisierung dieses Oligonucleo-

tids mit einer komplementären Sequenz, z. B. aus einem PCR-Produkt, öffnet sich die Haarnadelstruktur. Infolgedessen wird der Fluorophor vom Quencher getrennt und die Emission und Detektion von Fluoreszenzlicht ermöglicht (Abbildung 3A).

Quantitative Nucleinsäure-Nachweise, die auf der Verwendung von molecular beacons basieren, lassen sich leicht an spezifische Probleme anpassen und werden beispielsweise für Virus-Nachweise in klinischen Proben, zur Identifizierung und Quantifizierung von Bakterien in Umwelt- und Nahrungsmittelproben, aber auch für die kinetische Analyse und Bewertung von enzymatischen Reaktionen an Nucleinsäuren (siehe z. B. Lit.¹⁴⁾) benutzt.

Skorpion-Oligonucleotide sind gleichzeitig molecular beacon und Primer für die enzymatische Synthese eines DNA-Komplementärstrangs und können deshalb zum Nachweis von PCR-Produkten in einer unimolekularen Reaktion verwendet werden (Abbildung 3B). Mit einem „Multiplex-Skorpion-Assay“ konnten beispielsweise fünf Mutationen im humanen Chromosom 7 nachgewiesen werden, die an der Entstehung des Krankheitsbilds der Cystischen Fibrose beteiligt sind.¹⁵⁾

Eine weit verbreitete Alternative zu molecular beacons und Skorpionen ist das TaqMan-Verfahren, in dem man sich die 5'-3'-Exonuclease-Eigenschaft der Taq-DNA-Polymerase zunutze macht, durch die in Polymerisationsrichtung befindliche, mit dem Matrizenstrang hybridisierte Fragmente hydrolysiert werden (es wird sozusagen „der Weg für die Polymerase freigeräumt“; Abbildung 3C). Die an den Matrizenstrang hybridisierte, intakte TaqMan-Sonde trägt an ihren Enden Fluorophore, die ein FRET-Paar bilden, bei dem sich nach Anregung des Donors die Fluoreszenz des Acceptors detektieren lässt. Nach Hydrolyse durch die DNA-Polymerase/Exonuclease wird dieser FRET-Effekt zerstört; als Konsequenz sinkt die Fluoreszenz des Acceptors, während die des Donors ansteigt.

Nach den Nucleinsäuren gewinnen in der postgenomischen Ära

Proteine, die Produkte der Genexpression, zunehmend an Bedeutung: Neue Proteine werden entdeckt und charakterisiert, andere bereits in biotechnologischen Verfah-

ren eingesetzt. Insbesondere für die Klassifizierung und Bewertung von Enzymen oder Rezeptoren lassen sich Reaktionssysteme derart gestalten, daß die gewünschte Reaktion mit

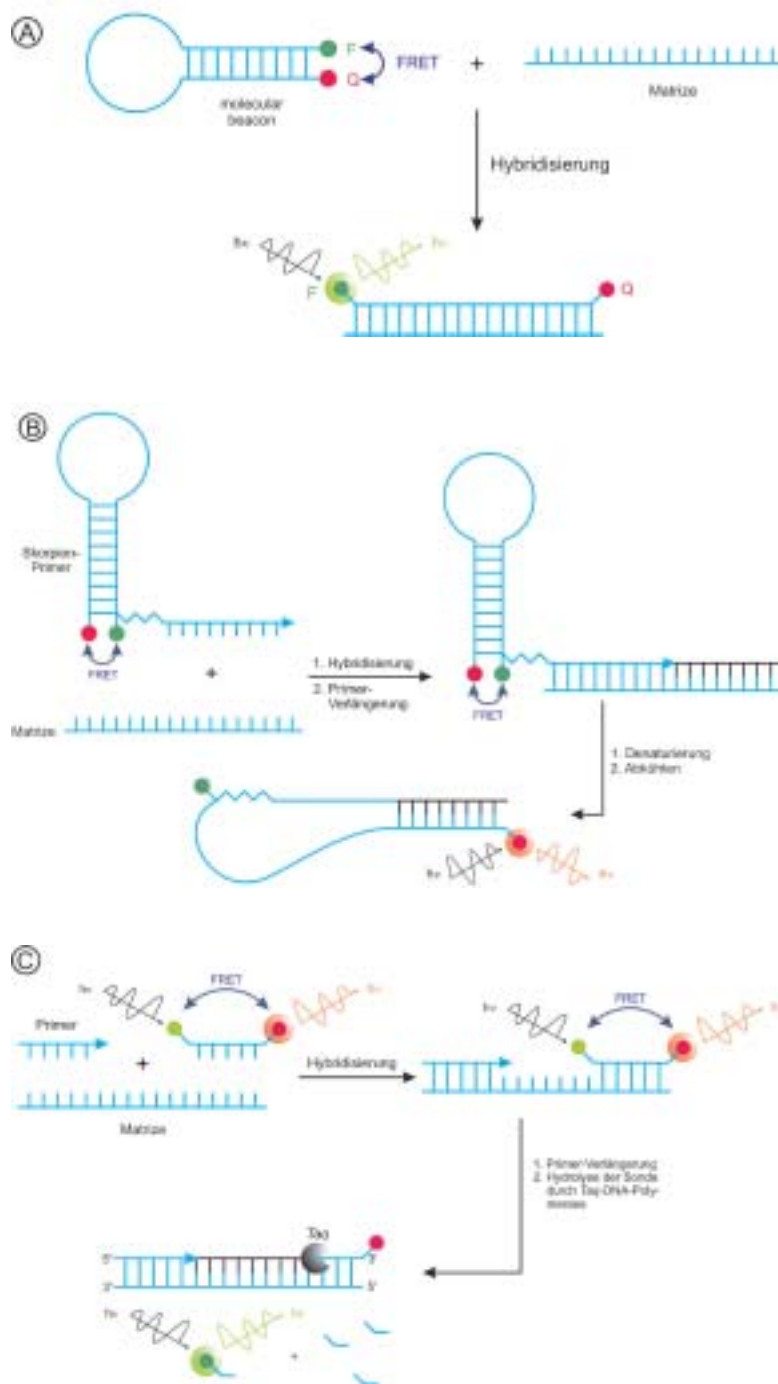


Abb. 3. (A) Struktur und Funktionsweise eines molecular beacon. In der Haarnadelstruktur bildet der Quencher (Q) einen nicht-fluoreszierenden Komplex mit dem Fluorophor (F). Nach Hybridisierung mit einer komplementären Matrize öffnet sich die Haarnadelstruktur und ermöglicht die Fluoreszenz. (B) Struktur und Funktionsweise eines Skorpions. Nach Hybridisierung und Kettenverlängerung wird der gebildete Doppelstrang aufgeschmolzen, so daß der Skorpion mit der neu synthetisierten Sequenz hybridisieren kann. (C) Die intakte TaqMan-Sonde emittiert Fluoreszenz (rot) nach Anregung des Donors (grün). Verlängerung des Primers durch Taq-DNA-Polymerase setzt die hybridisierte Sonde der 5'-3'-Exonuclease-Aktivität dieses Enzyms aus. Durch die Abspaltung des grünen Fluorophors wird der FRET-Effekt zerstört.

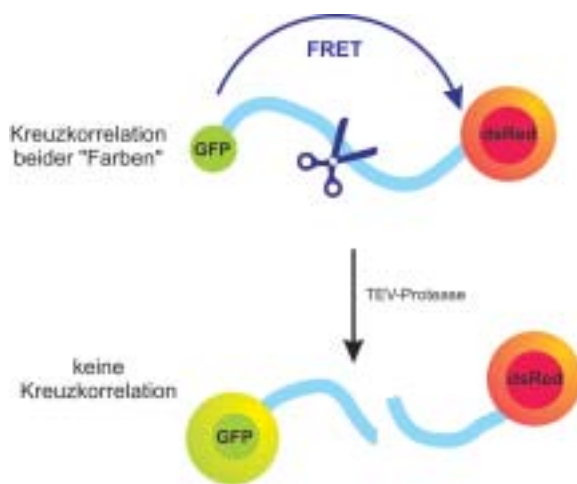


Abb. 4. Die fluoreszierenden Proteine GFP und dsRED sind durch eine 32 Aminosäuren lange Proteinkette miteinander verbunden, die gleichzeitig eine Protease-Erkennungssequenz enthält. Durch Einwirkung der Protease wird nicht nur der FRET-Effekt, sondern auch die Kreuzkorrelation aufgrund einer Separation der beiden Proteine unterbunden.

FRET-Donor- und Acceptorpaaren quantitativ detektierbar ist: Petra Schwille und Kollegen entwickelten beispielweise ein Nachweisverfahren für Protease-Aktivität, das auf der FRET-Analyse fluoreszenter Proteine basiert.¹³⁾ Dazu konstruierten sie ein Fusionsprotein aus der GFP-Variante rsGFP (FRET-Donor), einer 32 Aminosäuren langen Protease-Erkennungssequenz und dem rot fluoreszierenden Protein DsRed (FRET-Acceptor). Mit einer Kombination aus FRET-Analyse und Zweifarben-Fluoreszenz-Kreuzkorrelations-Spektroskopie (mit Zwei-Photonen-Anregung) konnte diese Gruppe die proteolytische Spaltung zwischen den beiden fluoreszierenden Proteinen direkt verfolgen und kinetisch analysieren (Abbildung 4).

Tarik Issad und Kollegen benutzen ein ähnliches Schema zur Markierung des humanen Insulin-Rezeptors, um dessen Aktivität quantitativ zu bestimmen.¹²⁾ Dieser Rezeptor ist ein Glycoprotein, das aus zwei α - und zwei β -Untereinheiten aufgebaut ist, die durch Disulfidbrücken verbunden sind. Bindung von Insulin induziert eine Konformationsumwandlung des Rezeptors, durch die die beiden β -Untereinheiten in räumliche Nähe geraten und letztlich eine Tyrosinkinase aktiviert wird. Da die Tyrosinkinase-Aktivität bei pathologischen Zuständen wie Diabetes verändert ist, besteht großes Interesse, nach neuen Verbindungen zu suchen, die anstelle von Insulin diese Aktivität stimulieren

können. Durch Fusionierung einer humanen Insulinrezeptor- β -Untereinheit mit Renilla-Luciferase und einer weiteren mit dem „Gelb Fluoreszierenden Protein“ (YFP) konstruierten die Autoren ein BRET-Paar, das mit der essentiellen, Liganden-induzierten Konformationsumwandlung korrespondiert, die der Signaltransduktion vorausgeht. Mit diesem Reportersystem gelang es ihnen, die Effekte von Insulin und Insulin-ähnlichen Liganden in Abhängigkeit von der jeweiligen Dosis nachzuweisen.

Mit FRET-basierten Assays wie den beiden hier vorgestellten lassen sich die Effekte neuer Substrate für verschiedene Enzyme oder potentieller Rezeptoragonisten schnell und quantitativ bewerten. Es liegt deshalb auf der Hand, FRET-Detektion insbesondere in Hochdurchsatz-Screeningverfahren, beispielsweise in der Wirkstoffforschung, einzusetzen.

Analyse von Proteinen und Protein-Protein-Interaktionen

Die Genomforschung der vergangenen Jahre hat eine Vielzahl an neuen Proteinen zutage gefördert. Jetzt gilt es, ihre Funktionen zu bestimmen. FRET-basierte Techniken erlauben nicht nur die Co-Lokalisierung von Proteinen in vivo und damit die Zuordnung funktioneller Einheiten, sondern ermöglichen auch die Beobachtung von Proteinfaltungen oder Konformationsumwandlungen.^{16,17)} Die zugrundeliegende Idee ist einfach: Jede Änderung eines Proteinzustands, beispielsweise durch Assoziation mit anderen Proteinen, durch Bindung eines Liganden oder durch katalytische Aktivität, ist mit einer Änderung bestimmter interatomarer Abstände innerhalb des Proteins verbunden. Durch intelligente Markierung beteiligter struktureller Einheiten mit Donor- und Acceptor-Chromophoren können diese Änderungen direkt verfolgt werden.

Ein Beispiel für die praktische Umsetzung dieses Konzepts ist Stephen Benkovic's Detektion des Öffnens und Schließens des T4-DNA-Polymerase-Holozyms.¹⁸⁾ Das En-

zym besteht aus drei Untereinheiten (gp43, gp45 und gp44/62), die sich torusartig um ein DNA-Molekül lagern. Durch Nutzung eines Tryptophanrests in einer der Untereinheiten als FRET-Donor und Coumarin-Markierung eines Cysteinrests der benachbarten Untereinheit als FRET-Acceptor konnten die Autoren Veränderungen des Abstands der beiden Untereinheiten verfolgen und daraus sieben Schritte einer Konformationsumwandlung ableiten. Weitere repräsentative Beispiele für die Anwendung dieses experimentellen Ansatzes reichen von Untersuchungen der Architektur der Escherichia coli-RNA-Polymerase¹⁹⁾ sowie der Ca^{2+} -abhängigen Konformationsumwandlung von Troponin²⁰⁾ bis zur Charakterisierung der Tertiär- und Quartärstruktur des Neuropeptid-Y-Dimers.²¹⁾

Ausblick

FRET hat sich als ein sehr nützliches Werkzeug für die direkte Beobachtung biomolekularer Wechselwirkungen und Reaktionen erwiesen – und wird dies mit Sicherheit auch weiterhin sein. Die Möglich-



Susanne Brakmann (Jahrgang 1964) studierte Chemie an der TU Braunschweig und promovierte 1991 bei Reinhold Tacke an der Universität Karlsruhe.

Anschließend wechselte sie an das MPI für biophysikalische Chemie in Göttingen, um sich in der Abteilung von Manfred Eigen mit der evolutiven Optimierung von Polynucleotid-Polymerasen zu befassen. Seit August 2001 führt sie ihre Forschung als Leiterin einer Nachwuchsgruppe an der Universität Leipzig/Biotechnologisch-Biomedizinisches Zentrum fort.



Nico Nöbel (Jahrgang 1978) studierte von 1997 bis 2002 an der Universität Leipzig Biochemie und arbeitet seit Juni 2002 als Doktorand über das

Thema „Fluoreszenz-basierte Polymerase-Assays“ in der Arbeitsgruppe von Susanne Brakmann.

des FRET-Effekts auf sehr niedrigem Konzentrationsniveau (bis hin zu Einzelmolekülen) und in den verschiedensten Lösungsmitteln (einschließlich lebender Zellen) sowie die Aufnahme von FRET-Signalen in Echtzeit zeigen die Vielseitigkeit dieser Technik. Die kontinuierliche Weiterentwicklung von Fluoreszenz- und (Bio-)Lumineszenzsonden sowie neue Wege zur Einführung dieser Sonden in Nuclein-säuren oder Proteine werden das Anwendungsspektrum von FRET stetig erweitern.

Susanne Brakmann, Nico Nöbel
AG Angewandte Molekulare Evolution
Institut für Zoologie
Universität Leipzig
sbrakma@uni-leipzig.de

- 1) M. Elangovan, R. N. Day, A. Periasamy, *Bio-techniques* 2002, 32, 1260–1265.
- 2) T. Ha, *Methods* 2001, 25, 78–86.
- 3) L. Stryer, R. P. Haugland, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1967, 58, 719–726.
- 4) B. W. van der Meer, G. C. III, S. Y. Chen, *Resonance Energy Transfer, Wiley-VCH, Weinheim, 1994.*
- 5) *Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA, Handbook of Fluorescent Probes and Research Products, 2002.*
- 6) B. B. Rosenblum, L. G. Lee, S. L. Spurgeon, S. H. Khan, S. M. Menchen, C. R. Heiner, S. M. Chen, *Nucl. Acids Res.* 1997, 25, 4500–4504.
- 7) J. S. Kang, G. Piszczek, J. R. Lakowicz, *J. Fluoresc.* 2002, 12, 97–103.
- 8) D. M. Willard, L. L. Carillo, J. Jung, A. van Orden, *Nano Lett.* 2001, 1, 469–474.
- 9) L. Song, E. A. Jares-Erijman, T. M. Jovin, *J. Photochem. Photobiol. A Chemistry* 2002, 150, 177–185.
- 10) L. Giordano, T. M. Jovin, M. Irie, E. A. Jares-Erijman, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 7481–7489.
- 11) Y. Xu, D. W. Piston, C. H. Johnson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 151–156.
- 12) N. Boute, R. Jockers, T. Issad, *Trends Pharmacol. Sci.* 2002, 23, 351–354.
- 13) T. Kohl, K. G. Heinze, R. Kuhleemann, A. Koltermann, P. Schwille, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 12161–12166.
- 14) D. Summerer, A. Marx, *Angew. Chem.* 2002, 114, 3778–3780.
- 15) N. Thelwell, S. Millington, A. Solinas, T. Brown, *Nucl. Acids Res.* 2000, 28, 3752–3761.
- 16) K. Truong, M. Ikura, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2001, 11, 573–578.
- 17) T. Heyduk, *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002, 13, 292–296.
- 18) M. A. Trakselis, S. C. Alley, E. Abel-Santos, S. J. Benkovic, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 8368–8375.
- 19) T. Heyduk, A. Niedzala-Majka, *Biopolymers* 2002, 61, 201–213.
- 20) C. Kimura, K. Maeda, Y. Maeda, M. Miki, *J. Biochem.* 2002, 132, 93–102.
- 21) A. Bettio, A. G. Beck-Sickingler, *Biopolymers* 2001, 60, 420–437.

<Trendbericht>

Theoretische Chemie 2002

Die Dichtefunktionaltheorie zielt auf die Beschreibung von Energieaufspaltungen von Spin-zuständen und Spin-Spin-Kopplungen in Übergangsmetallkomplexen. Moleküldynamik-Simulationen profitieren von verbesserten Referenzdaten und wachsenden Rechenkapazitäten; polarisierbare Kraftfelder sind auf dem Vormarsch. Mit linear skalierenden Algorithmen sind nun für große Moleküle korrelierte Elektronenstrukturrechnungen möglich.

DFT für Übergangsmetalle

◆ Die Dichtefunktionaltheorie (DFT) – im Rahmen des Ansatzes von Kohn und Sham für die Darstellung der Elektronendichte durch Ein-Teilchen-Funktionen eines Systems nicht wechselwirkender Teilchen – hat sich rasant entwickelt und ist zu dem Arbeitspferd in der theoretischen Chemie geworden. Während über die neuesten Fortschritte der formalen Theorie im letzten Jahr in

dieser Zeitschrift berichtet wurde [Nachr. Chem. 2002, 50, 327], soll nun den Entwicklungen Rechnung getragen werden, die zu einer unmittelbaren Verbesserung der bereits in Gebrauch befindlichen DFT-Methoden führen.

Die unmittelbarsten und wichtigsten Kenndaten einer DFT-Rechnung sind die durch Optimierung erhaltene Struktur und die zugehörige elektronische Energie eines Systems. Übergangsmetall(ÜM)-Verbindungen sind in dieser Hinsicht als sehr kritische Moleküle einzustufen, da sich

die allgemeine Zuverlässigkeit der verwendeten Funktionale gerade bei der Beschreibung der elektronischen Struktur der ÜM-Verbindungen zeigen muß. So stellen sich die Fragen, ob für Multikonfigurationsfälle bereits eine Ein-Determinanten-Beschreibung durch die Kohn-Sham-Methode ausreicht, ob die energetische Lage verschiedener Spinzustände einer ÜM-Verbindung reproduziert werden kann und ob elektronische Spin-Spin-Kopplungen in mehrkernigen Clustern beschrieben werden können. →