

Xe NMR-biosensorien laskennalliset tutkimukset

LuK-tutkielma

Perttu Hilla

Fysiikan tutkinto-ohjelma

Luonnontieteellinen tiedekunta

Oulun yliopisto 2020

Sisältö

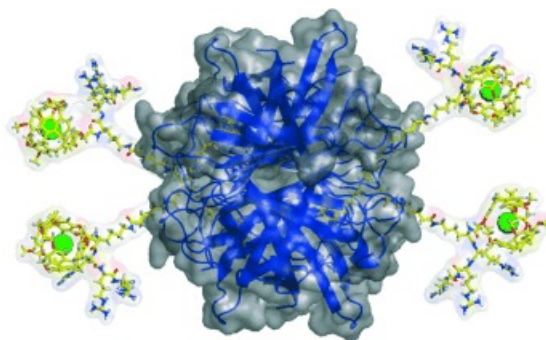
1	NMR-spektroskopia	4
1.1	Ytimen magneettiset ominaisuudet	4
1.2	Ydin ulkoisessa magneettikentässä	5
1.3	Ytimen ympäristön vaikutus	7
2	Ksenon NMR-biosensorit	8
2.1	^{129}Xe -isotooppi	9
2.2	Spinien vaihtoon perustuva optinen pumppaus	10
2.3	Isäntämolekyylit	11
2.3.1	Kryptofaanit	12
2.3.2	Kukurbiturilit	13
2.4	Epäsuorat havaintomenetelmät	13
3	Laskennalliset menetelmät	14
3.1	Schrödingerin yhtälö	15
3.2	Elektronirakenne	16
3.2.1	Hartree-Fock	16
3.2.2	Häiriöteoria	17
3.3	Kantajoukot	18
3.4	Tiheysfunktionaaliteoria	19
3.4.1	Kohnin ja Shamien menetelmä	19
3.5	Laskennallinen NMR	20
3.6	Molekyylidynamiikan simulaatiot	21
4	Laskennalliset tutkimukset	22
4.1	Ksenonin elektroniverhon varjostus ja kemiallinen siirtymä	22
4.2	Ksenonin affiniteetti	25
4.3	Häkin geometria	25
4.4	Häkkiin lisättyjen yksiköiden vaikutus	26
4.5	Kemiallinen ympäristö	26
5	Yhteenveto	28

Johdanto

Tässä LuK-tutkielmassa tutustutaan ksenonytimen NMR-spektroskopian (Nuclear Magnetic Resonance = ydinmagneettinen resonanssi) biosensorisovellukseen ja siihen liittyviin laskennallisteoreettisiin tutkimuksiin [1, 2]. Pyrkimys ymmärtää sairauksia molekyyllitasolla vaatii uusien molekulaaristen luotaimien suunnittelua. Xe NMR-biosensorit ja niiden sovellukset ovat nousseet lääketieteessä suuren kiinnostuksen kohteeksi uutena, erittäin tarkkana tutkimusmenetelmänä. Yksi perinteisen NMR:n suurista ongelmista on sen epäherkkyys, ja käyttämällä ksenonbiosensoreita jo hyvin pienen konsentraation biotapahtumista kyettäisiin saamaan tietoa. Menetelmän herkkyys edistäisi suuresti lääketieteellistä diagnostiikkaa, ja mahdollistaisi esimerkiksi tiettyjen solureseptorien, keuhkojen (joissa on vähäinen protonitiheys perinteistä magneettikuvaa ajatellen) ja mahdollisten syöpäkasvainten tarkkaa havaitsemista [1]. Ksenonbiosensoreilla on myös useita sovelluskohteita tutkittaessa liuoksien ominaisuuksia, esimerkiksi pH-arvoa ja lämpötilaa [1, 3]. Menetelmässä on ideana käyttää ympäristön muutoksille herkkää ksenonia isäntämolekyylin sisällä biokemiallisen ympäristön vakoojana tai tunnustelijana. Isäntämolekyyli on ksenonia suurempi, syntetisoitu molekyyli rakenne, jonka tehtävänä on etsiä tutkittava kohde (esimerkiksi solun proteiini) ja sitoutua tähän funktionaalisen ryhmänsä avulla. Tätä kokonaisuutta kutsutaan *ksenonbiosensoriksi*. Tilanteet, joissa tutkittava kohde on tai ei ole sitoutuneena biosensoriin, voidaan erottaa ksenonin NMR-spektristä.

Tässä työssä tutustutaan NMR-spektroskopian perusteisiin, etenkin *elektroniverhon varjostukseen* ja *kemialliseen siirtymään*, jotka ovat tutkielmassani tärkeimmät parametrit. Tämän jälkeen käydään läpi ksenonbiosensorien peruseriaatteet, sekä tutustutaan ksenonin (erityisesti ^{129}Xe -isotoopin) ja isäntämolekyylien ominaisuuksiin. Lopuksi tutustutaan pintapuolisesti laskennallisteoreettisten menetelmien teoriaan sekä tehtyihin laskennallisiin tutkimuksiin.

Tutkielman tarkoituksena on ollut selvittää mitä ovat ksenonbiosensorit ja niiden toimintaperiaatteet, sekä erityisesti kartoittaa ksenonbiosensoreita koskevia laskennallisia tutkimuksia, tutustua niissä käytettyihin menetelmiin, ja vertailla tehtyjä tutkimuksia keskenään.



Kuva 1: Ksenonbiosensoreita kiinnittyneenä tutkittavaan kohteeseen [4].

1 NMR-spektroskopia

NMR perustuu ytimen kykyyn vuorovaikuttaa sähkömagneettisen kentän kanssa. Se on hyvin monipuolinen tutkimusmenetelmä, joka tarjoaa kemiallista, dynaamista ja avaruudellista tietoa kohteesta. NMR-ilmion löysivät toisistaan riippumatta *Felix Bloch* ja *Edward Purcell* vuonna 1946 [5, 6], ja saivat tästä jaetun fysiikan Nobel-palkinnon vuonna 1952 [7]. *Paul C. Lauterbur* ja *Sir Peter Mansfield* kehittivät NMR-ilmion pohjalta magneettikuvauksen (MRI = Magnetic Resonance Imaging) [8, 9]. Menetelmä on mullistanut lääketieteellisen kuvantamisen. He saivat tästä lääketieteen Nobel-palkinnon vuonna 2003. NMR-kokeissa havaittava signaali on radiotaajuista sähkömagneettista säteilyä, joten magneettikuvaus ei ole myöskään ionisoiva menetelmä. NMR soveltuu myös erinomaisesti materiaalitutkimukseen.

1.1 Ytimen magneettiset ominaisuudet

Luvun 1 teoria perustuu erillisiä viitteitä lukuunottamatta luentomonisteseen [10]. Atomin ydin on protoneista ja neutroneista koostuva systeemi. Kuten esimerkiksi elektroneilla, myös useiden eri atomien ytimillä on nolasta poikkeava *spinimpulssimomentti* \mathbf{J} (vektori), tai lyhyemmin *spin*. Usein klassisesti spin samaistetaan sisäiseen pyörimismäärään hiukkasen oman akselin ympäri. Spiniä ei kuitenkaan voi täysin kuvata klassisilla malleilla, koska se on kvanttimekaaninen ominaisuus. Ytimen \mathbf{J} saadaan sen protonien ja neutronien spinien ja rataimpulssimomenttien vektorisummana. Kvanttimekaanisesti \mathbf{J} :n pituus J on

$$J = |\mathbf{J}| = \hbar\sqrt{I(I+1)}, \quad (1)$$

missä \hbar on redusoitu Planckin vakio ja I on kullekin ytimelle ominainen *spinquanttiluku*. I määräytyy ytimen massaluvun, eli protonien ja neutronien lukumäärän mukaan. Se voi saada arvoja

$$I = 0, \frac{1}{2}, 1, \frac{3}{2}, \dots \quad (2)$$

Vety-ytimelle eli protonille ja ^{129}Xe -isotoopille spinquanttiluku on $\frac{1}{2}$. Kun \mathbf{J} :n projektiota mitataan z -akselin suunnassa (esim. ulkoisen magneettikentän suunnassa), saa se arvoja

$$J_z = \hbar m ; m = I, I-1, \dots, -I \quad (3)$$

joita on yhteensä $2I + 1$ kappaletta. Nämä arvot vastaavat tiettyjä ytimen orientaatioita suhteessa mittausakseliin. Kun ytimellä on spinimpulssimomentti, niin sillä on myös *magneettinen dipolimomentti* $\boldsymbol{\mu}$, joka on (riippuen parametrin γ merkistä) samansuuntainen tai vastakkaisuuntainen \mathbf{J} :n kanssa:

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma\mathbf{J}. \quad (4)$$

Magneettinen dipolimomentti on suoraan verrannollinen lukuun γ , joka on kullekin ytimelle ominainen *gyromagneettinen suhde*. Näin ollen myös $\boldsymbol{\mu}$ on kvantittunut, ja sen pituus μ on

$$\mu = |\boldsymbol{\mu}| = \gamma J = \gamma \hbar \sqrt{I(I+1)}, \quad (5)$$

ja z -akselin suunnassa

$$\mu_z = \gamma J_z = \gamma \hbar m. \quad (6)$$

Ytimien voi siis ajatella olevan pieniä sauvamagneetteja, jotka ovat jatkuvassa lämpöliikkeessä.

1.2 Ydin ulkoisessa magneettikentässä

Kun ydin, jolla on nolasta poikkeava magneettinen dipolimomentti $\boldsymbol{\mu}$, laitetaan ulkoiseen magneettikenttään \mathbf{B}_0 , kohdistaa kenttä ytimeen vääntömomentin $\boldsymbol{\mu} \times \mathbf{B}_0$. Tämän seurauksena ydin alkaa *prekessoida*, eli sen pyörimisakseli alkaa nopeasti kiertymään. Ydin siis prekessoi samaan tapaan kuin mekaaninen hyrrä prekessoi maan gravitaatiokentässä. Tästä aiheutuva ytimen ns. *Larmorin prekessiotaajuus* on

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0. \quad (7)$$

Prekessiotaajuus on riippuvainen vain magneettikentän suuruudesta ytimen kohdalla ja ytimen gyromagneettisesta suhteesta. Usein ν ilmoitetaan kulmataajuutena $\omega = 2\pi\nu$. Klassisesti, kun magneettiseen dipoliin vaikuttaa magneettikenttä (Zeemanin vuorovaikutus), on systeemin energia

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B} \quad (8)$$

ja z -akselin suunnassa

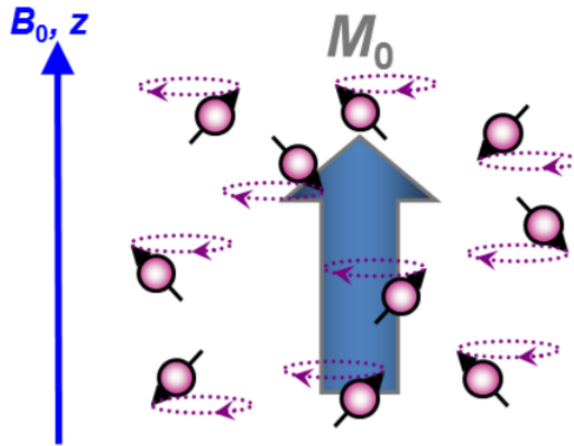
$$E_m = -\gamma \hbar B m. \quad (9)$$

Ytimen energia magneettikentässä on siis myös kvantittunut. Kun ytimen kvanttitila siirtyy kahden vierekkäisen energiatason välillä ($\Delta m = \pm 1$), on *energian muutos* $\Delta E = \pm \gamma \hbar B$. Näin ollen ydin pystyy absorboimaan tai emittoimaan energiakvantin taajuudella ν , joka on täsmälleen yhtä suuri kuin yhtälössä (7) esitetty prekessiotaajuus

$$\nu = \frac{\Delta E}{h} = \frac{\gamma \hbar}{h} B = \frac{\gamma}{2\pi} B. \quad (10)$$

Huomataan, että tutkimalla ytimen resonanssitaajuutta, saadaan tietoa ytimen kohdalla vaikuttavasta magneettikentästä. *Fysikaalisen ympäristön takia se ei kuitenkaan ole yleensä sama kuin ulkoinen magneettikenttä*. Tästä kerrotaan lisää luvussa 1.3. Sähkömagneettisessa spektrissä näiden emittoituneiden tai absorboituneiden fotonien taajuus sijoittuu radioaaltojen alueelle. NMR-kokeissa ei siis vuorovaikuta ionisoiva säteily, joten ne eivät vahingoita kudosta.

Koska fysikaalinen systeemi – oli se sitten klassinen tai kvanttimekaaninen – pyrkii aina termodynaamisen potentiaalin minimiarvoon, alkavat ytimet yhtälön (8) mukaan orientoitumaan ulkoisen magneettikentän suuntaisesti tai sitä vastaan (riippuen γ :n merkistä, Kuva 2). Kvantittuneet orientaatiot eivät kuitenkaan koskaan pysty täysin saavuttamaan



Kuva 2: Nollasta poikkeavan spinimpulssimomentin omaavat ytimet pyrkivät orientoitumaan magneettikentän suuntaisesti. Erisuuntaisten magneettisten momenttien summaututtua näytteessä havaitaan spin-ylös- tai spin-alassuuntaan vaikuttava makroskooppinen ydinmagnetoituma [10].

yhdensuuntaisuutta ulkoisen kentän kanssa. Spin-1/2 -ytimillä (^{129}Xe ja ^1H) on kaksi mahdollista eri kvantttilaa: *spin-ylös* ja *spin-alas*. Kun näytettä tutkitaan, havaitaan että spin-1/2-ydinten tapauksessa spin-ylös- ($m = +1/2$) ja spin-alastiloissa ($m = -1/2$) olevien ydinten välillä on miehitysero. Ytimillä, joilla γ on positiivinen, spin-ylöstilassa olevia ytimiä on hieman enemmän, koska se on energeettisesti matalampi tila kuin spin-alas. Ytimillä, joilla γ on negatiivinen, tilanne on päinvastainen. Termisen energian takia ytimet eivät kuitenkaan kaikki ole spin-ylös- tai spin-alas-tilassa. Esimerkiksi huoneenlämmössä saatavilla oleva terminen energia kT (k on Boltzmannin vakio ja T lämpötila) on huomattavasti suurempi kuin tilojen väliseen siirtymään vaadittava energia ΔE . Näin ollen miehitysero on hyvin pieni. Esimerkiksi ^{129}Xe :lla huoneenlämmössä ja 9,4 T magneettikentässä ero miljoonan ytimen joukossa on noin 9 ytimen suuruinen [1]. Tilojen miehitysluvut noudattavat Boltzmannin jakaumaa, jolloin miehityslukujen suhteeksi saadaan

$$\frac{N_{+1/2}}{N_{-1/2}} = e^{\Delta E/kT} = e^{\gamma\hbar B/kT}, \quad (11)$$

ja suhteelliseksi miehityslukujen eroksi eli *ydin spinpolarisaatioksi* sarjakehitelmän ja oletuksen $|\gamma|\hbar B \ll kT$ avulla

$$\frac{N_{+1/2} - N_{-1/2}}{N_{+1/2} + N_{-1/2}} \approx \frac{\Delta E}{2kT} = \frac{\gamma\hbar B}{2kT}. \quad (12)$$

Kun N :n ytimen näytteessä olevien ydinten magneettiset dipolimomentit summaataan, mitätöi suurin osa eri spintiloissa olevista ytimistä toisensa. Jäljelle jää kuitenkin muutamia spin-ylös- tai spin-alassuuntaan vaikuttavia magneettisia dipoleja. Näin ollen näytteeseen muodostuu ulkoisen magneettikentän suuntainen *makroskooppinen ydinmagnetoituma* \mathbf{M}_0 (Kuva 2), jonka suuruus termisessä tasapainossa on

$$M_0 = \frac{N\gamma^2\hbar^2 I(I+1)}{3kT} B. \quad (13)$$

Havaittava NMR-signaali on suoraan verrannollinen ydinmagnetoituman suuruuteen. Magnetoituman suuruuteen vaikuttaa siis oleellisesti havaittavien ytimien lukumäärä N , lämpötila T ja ytimen gyromagneettinen suhde γ . Vedyllä on suurin γ kaikista stabiileista ytimistä, ja sitä on ihmisessä veden takia runsaasti. Tästä syystä protoni on eniten käytetty NMR-ydin.

1.3 Ytimen ympäristön vaikutus

Aiemmin mainittiin, että tutkimalla ytimen resonanssitaajuutta saadaan tietoa sen kohdalla vaikuttavasta magneettikentästä. Jos magneettikenttä ytimen kohdalla olisi suoraan ulkoisen kentän B_0 suuruinen, kertoisi NMR vain ytimen ominaisuuksista. Näin ei kuitenkaan ole. *Ytimen fysikaalinen ja kemiallinen ympäristö muuttavat hieman sen kohdalla vaikuttavaa magneettikenttää.* Suuruudeltaan tämä muutos on tyypillisesti luokkaa $0 - 10^3$ miljoonasosaa ulkoisen kentän suuruudesta, mutta se on kuitenkin täysin havaittavissa. Merkittävimpinä tekijöinä ovat ydintä ympäröivän *elektroniverhon* käyttäytyminen ja *naapuriydinten* vaikutus. Juuri tässä piilee NMR:n suosio. Se tarjoaa hyvin tarkkaa ja monipuolista tietoa ytimen fysikaalisesta ja kemiallisesta ympäristöstä.

Vuorovaikutukset voi jaotella niiden toimintamekanismin mukaan kolmeen osaan. Elektroniverhon *varjostusvuorovaikutus*, suora *dipolivuorovaikutus* ja epäsuora *spin-spin-vuorovaikutus*. Tässä tutkielmassa keskityn varjostusvuorovaikutukseen (shielding effect), jota esitellään seuraavaksi.

Kun elektronisysteemi (esim. atomi tai molekyyli) laitetaan ulkoiseen magneettikenttään \mathbf{B}_0 , kokevat elektronit Lorentzin voiman, joka pakottaa ne kiertoliikkeeseen \mathbf{B}_0 :n suunnan ympäri. Tästä voi ajatella aiheutuvan pieniä virtasilmuksia, joiden indusoimat uudet magneettikentät pyrkivät useimmissa tapauksissa Lenzin lain mukaan pienentämään ytimen kohdalla vaikuttavaa magneettikenttää. Joissain hyvin harvinaisissa tapauksissa voi käydä päinvastoin. Sanotaan, että elektronit *varjostavat* ydintä. Tällöin ytimen I resonanssitaajuus on muotoa

$$\nu_I = \frac{\gamma_I}{2\pi} (1 - \sigma_I) B_0, \quad (14)$$

jossa σ_I on ytimen *varjostusvakio* tietyssä ympäristössä. Sen arvo on erisuuruinen molekyylien eri osissa oleville ytimille, koska myös ympäristöt voivat olla hyvin erilaiset. Tämän takia myös resonanssitaajuuden arvo on ytimen sijainnista riippuvainen.

Todellisuudessa, etenkin molekyyliä tutkittaessa, tilanne on kuitenkin anisotrooppinen. Vaikka usein ytimen varjostusvakion ajatellaan olevan skalaari, joka liitetään molekyylin kuhunkin ytimeen, tulee sitä todellisuudessa kuvata tensorilla. Tämä johtuu siitä, että elektronien varjostus on riippuvainen molekyylin orientaatiosta suhteessa ulkoiseen magneettikenttään. Tämä voidaan helposti huomata esimerkiksi tutkittaessa kiderakenteiden NMR-spektriä kiteen eri orientaatioilla suhteessa ulkoiseen magneettikenttään [11]. Varjostus on 2-indeksinen tensori, eli matriisi, jolla on 0:n, 1:n ja 2:n kertaluokan osia vastaten varjostusvakiota, anisotrooppista antisymmetristä osaa ja anisotrooppista symmetristä osaa. Karteesisessa avaruudessa se on 3×3 matriisi

$$\boldsymbol{\sigma} = \begin{pmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & \sigma_{xz} \\ \sigma_{yx} & \sigma_{yy} & \sigma_{yz} \\ \sigma_{zx} & \sigma_{zy} & \sigma_{zz} \end{pmatrix}, \quad (15)$$

jonka elementit ovat

$$\sigma_{\alpha\beta} = \frac{\partial^2 E}{\partial \mu_\alpha \partial B_{0,\beta}}, \quad (16)$$

jossa E on molekyylin elektronien kokonaisenergia, μ_α on kyseisen ytimen magneettisen dipolimomentin α -suuntainen komponentti ja $B_{0,\beta}$ on ulkoisen magneettikentän β -suuntainen komponentti [12]. Neste- tai kaasufaasisissa vain matriisin diagonaalilla olevat elementit ovat kiinnostavia, koska molekyylien isotrooppisen lämpöliikkeen takia anisotrooppiset osat keskiarvoistuvat nolaksi. Puhutaan kuitenkin tässä luvussa varjostuksesta vain skalaarina.

Eri ympäristöissä olevien ytimien resonanssitaajuuksien ero on niiden välinen *kemiallinen siirtymä* δ . Tässä tutkielmassa juuri kemiallinen siirtymä on kiinnostava NMR-parametri. Käytännössä kemiallinen siirtymä tulee mitata jonkin referenssiaineen suhteen. Yleensä referenssiaineen taajuus ν_{ref} ja NMR-spektrometrin operointitaajuus ν_0 poikkeavat toisistaan vain vähän, jolloin kemiallinen siirtymä voidaan kirjoittaa

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{ref}}{\nu_{ref}} \times 10^6 \approx \frac{\nu - \nu_{ref}}{\nu_0} \times 10^6. \quad (17)$$

Kemiallinen siirtymä ilmoitetaan yleensä miljoonasosina (ppm) sen pienen suuruusluokan takia. Siirtymäasteikon etuna on se, että sen arvot ovat hyvällä tarkkuudella *magneettikentästä riippumattomia*. Kun yhtälön (14) resonanssitaajuudet kirjoitetaan yhtälön (13) avulla auki, saadaan

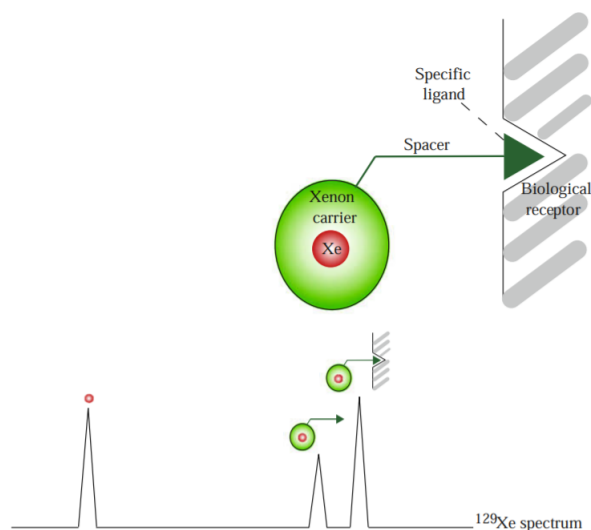
$$\delta = \frac{(1 - \sigma)B_0 - (1 - \sigma_0)B_0}{(1 - \sigma_0)B_0} \times 10^6 = \frac{\sigma_0 - \sigma}{1 - \sigma_0} \times 10^6 \approx (\sigma_0 - \sigma) \times 10^6. \quad (18)$$

Nähdään siis, että kemiallinen siirtymä ja varjostus ovat voimakkaasti yhteydessä toisiinsa. Useimmiten, kun varjostus pienenee, niin kemiallinen siirtymä kasvaa. Joskus (varsinkin Xe NMR-töissä) voidaan kemiallinen siirtymä kuitenkin määritellä samansuuntaiseksi varjostusvakion kanssa. Esimerkiksi etanolissa $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ vedyn protonien kemiallinen siirtymä CH_3 -ryhmän kohdalla on noin 1 ppm, kun taas OH-ryhmän kohdalla se on noin 4 ppm. Historiallisista syistä δ -spektri kasvaa oikealta vasemmalle.

Suorassa dipolivuorovaikutuksessa ytimen luoma magneettikenttä vuorovaikuttaa suoraan toisen ytimen magneettisen dipolimomentin $\boldsymbol{\mu}$ kanssa. Spin-spin -vuorovaikutuksessa tämä tapahtuu epäsuorasti elektroniverhon kautta. Molemmat tapaukset havaitaan kemiallisen siirtymän spektriviivojen jakautumisena.

2 Ksenon NMR-biosensorit

Tässä luvussa tutustutaan ksenonbiosensoreihin, niiden toimintaperiaatteisiin ja joihinkin potentiaalsiin ksenonbiosensoreihin. Aluksi käydään läpi ksenonin ja etenkin ^{129}Xe -isotoopin ominaisuuksia. Luvussa tutustutaan myös spinien vaihtoon perustuvaan optiseen pumppaukseen [13], jonka avulla tuotetaan hyperpolarisoitua ksenonia. Sen jälkeen



Kuva 3: Ksenonbiosensorin kemiallisen siirtymän spektri. Vapaalla ksenonilla (vasemmalla) on suurin kemiallinen siirtymä. Isäntärakenteeseen kahlitun ksenonin kemiallinen siirtymä on keskellä. Oikeassa reunassa koko biosensori on kiinnittynyt tutkittavaan kohteeseen. Jokainen tilanne voidaan erottaa ksenonin NMR-spektrissä [2].

käydään läpi sensoreiden isäntärakenteita, erityisesti *kryptofaaneja*, ja niiden valintakriteerejä. Lopuksi esitellään ksenonbiosensorien kanssa käytettyä epäsuoraa havaintomenetelmää [14].

Biosensorilla tarkoitetaan ennalta suunniteltua fysikaalista tai kemiallista ilmaisinta, jota käytetään yhdessä spektroskopian tai kuvantamismenetelmän kanssa tunnistettaessa erilaisia suureita tai ”biotapahtumia”. Ksenonbiosensorin tapauksessa ksenon on vangittu isäntärakenteeseen (host), joka hakeutuu spontaanisti tutkittavaan kohteeseen, tai yleisesti kokee fysikaalisen tai kemiallisen muutoksen, joka välittyy vangitun ksenonin NMR-signaaliin. Tämä isäntärakenne (usein puhutaan myös häkkirakenteesta) on välttämätön, koska ksenon ei yksin spesifoidu mihinkään biokemialliseen kohteeseen. Tätä varten isäntämolekyylillä tulee olla funktionaalisia ryhmiä, jotka toimivat tarttumapinnanaineina tutkittavaa ainetta varten. Ksenon kokee vangittuna muutoksen sen kemiallisessa siirtymässä, kun tutkittava aine sitoutuu isäntämolekyyliin. Tällainen tapahtuma voidaan erottaa ksenonin NMR-spektristä (Kuva 3).

2.1 ^{129}Xe -isotooppi

Ksenonin erinomaiset ominaisuudet biosensorisovelluksissa johtuvat sen elektronipilvestä ja kemiallisesta inerttiydestä. Ksenon on raskas jalokaasu, jonka elektronipilvi on hyvin suuri, jolloin uloimmat elektronit ovat kaukana ytimeistä, ja elektronipilvi pääsee muiden atomien tai molekyylien lähellä helposti muokkautumaan. Tällöin *elektronipilven aiheuttama atomiytimen varjostus muuttuu ja kemiallinen siirtymä joko vähenee tai kasvaa*. Ksenonin kemiallinen siirtymä on siis todella herkkä kemiallisen ympäristön muutoksille. Koska ksenon on varaukseton jalokaasu, sen elektronikuoret ovat täysin miehityt, joten se on kemiallisesti hyvin passiivinen. Ksenon on pooliton, jonka takia se omaa korkean affiniteetin hydrofobisiin alueisiin. Isäntärakenteina käytettyjen molekyylien ”sisusta” on

yleensä hydrofobista aluetta, eli ksenon hakeutuu spontaanisti näihin kaviteetteihin.

Ksenonilla on kaksi NMR-aktiivista isotooppia, ^{129}Xe ja ^{131}Xe . ^{129}Xe on biosensorisovellukseen näistä sopivampi. Se on spin-1/2 -ydin, mikä tekee siitä vähemmän taipuvaisen nopeaan relaksaatioon (ydin ei ole kvadrupolaarinen, eli sen varausjakauma on pallosymmetrinen), se pystytään helposti hyperpolarisoimaan ja sen gyromagneettinen suhde on suhteellisen suuri ($\gamma = 11,841 \text{ MHz/T}$) [1]. Se on ksenonin isotoopeista toiseksi yleisin (luonnollinen runsaus 26,4%), ja sen van der Waalsin tilavuus on n. 42 \AA^3 , joka on käytetyimpien isäntärakenteiden kaviteetin kokoon nähden juuri sopiva. Tämä vieraan ja isännän yhteensopivuus on tärkeää, koska aika, jonka ksenon viettää kaviteetissa, on hyvin riippuvainen kaviteetin koosta. Näin ollen yhteensopivuus vaikuttaa myös tuotetun NMR-signaalin voimakkuuteen.

Ksenonia ei luonnostaan esiinny ihmisessä juuri lainkaan. Tämän takia ksenonin signaali on helppo erottaa taustasignaaleista, toisin kuin vety-ytimen tapauksessa. Samasta syystä makroskooppinen ydinmagnetoituma on kuitenkin hyvin pieni ja ksenonin NMR-signaali on melko heikko. Tämän takia ksenon tulee ensin *hyperpolarisoida*, ennen kuin sitä voidaan järkevästi käyttää biosensoreissa.

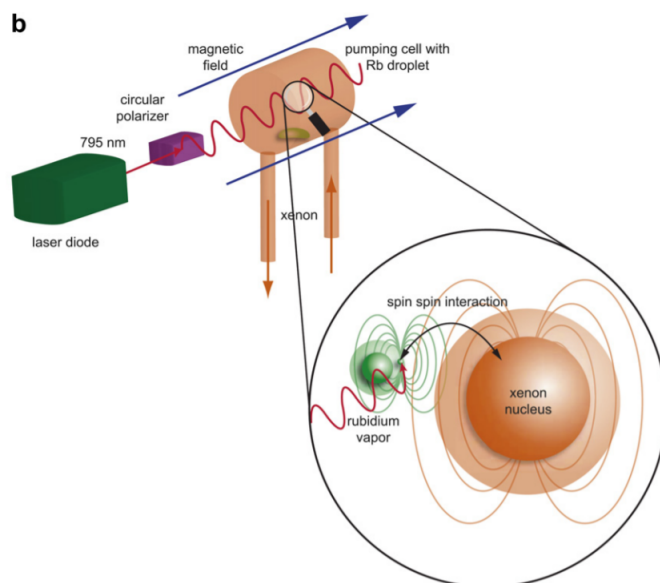
2.2 Spinien vaihtoon perustuva optinen pumppaus

Spinien vaihtoon perustuva optinen pumppaus, eli SEOP (Spin Exchange Optical Pumping) on kolmiosainen prosessi, jossa pyritään kasvattamaan spintilojen miehityseroa, eli ns. hyperpolarisoimaan ksenon (Kuva 4). Hyperpolarisoinnissa polarisaatiota siirretään jostain hyvin polarisoituneesta systeemistä ydinten spin-polarisaatioksi, jolloin spin-ylöstilassa olevien ydinten lukumäärä kasvaa, ja ydinmagnetoituma vahvistuu. NMR-signaalin voimakkuutta voidaan SEOP-menetelmällä kasvattaa jopa 10^3 — 10^5 -kertaiseksi verrattuna termiseen tasapainoon [13]. SEOP-prosessin vaiheet ovat:

1. Tuotetaan ympyräpolarisoitunutta valoa. Tällöin sähkömagneettisen säteilyn sähkökenttävektorin amplitudi on vakio, mutta sen x - ja y -suuntaisten komponenttien välillä on $\frac{\pi}{2}$:n suuruinen vaihe-ero ja ne kiertävät etenemissuunnan z ympäri vakiokulmanopeudella. Tämä tapahtuu yleensä laserdiodilla, joka emittoi monokromaattista valoa, jonka aallonpituus vastaa menetelmässä käytetyn alkalimetallin siirtymää $^2P_{1/2} \leftarrow ^2S_{1/2}$ eli elektronisen perustilan ja 1. viritystilan välillä. Näiden käyttökelpoisten laserdiodien kaupallinen tuottaminen tässä yhteydessä on osittain motivoinut ksenonbiosensorien kehitystä.

2. Pumpataan tätä valoa johonkin elektronisysteemiin. Tämä on yleensä alkalimetallihöyryä, esimerkiksi rubidiumia. Tällöin käytetyn laserin aallonpituus on 795 nm. Valon polarisaatio siirtyy alkalikaasun elektronien spinpolarisaatioksi. Tämä alkalikaasu voidaan sitten laitteistossa ohjata ns. polarisaatiokammioon ksenonkaasun kanssa. Kammiossa on usein ksenonin lisäksi heliumia sekä typpeä. Liian suuri ksenonmäärä alkaisi depolarisoida alkalikaasun elektronien spinejä. Typpi toimii tässä ikään kuin puskuriaineena, joka absorboi ylimääräisiä emittoituvia fotoneja.

3. Annetaan elektronien spinpolarisaation siirtyä ksenonytimiin *spin-vaihtotörmäyksissä*, joissa alkalikaasun elektronien ja ksenonytimien spin-tilat vaihtuvat keskenään päinvastaisiksi. Tehokkaimmillaan ksenonytimille voidaan teoriassa saavuttaa jopa melkein 100% spin-polarisaatio, mutta käytännössä tulos on lähempänä 50% arvoa. Kun SEOP yhdistetään sopivien epäsuorien havaintomenetelmien kanssa (joista lisää luvussa 2.4) niin signaalia voidaan vahvistaa jopa 10^7 -kertaiseksi [1].



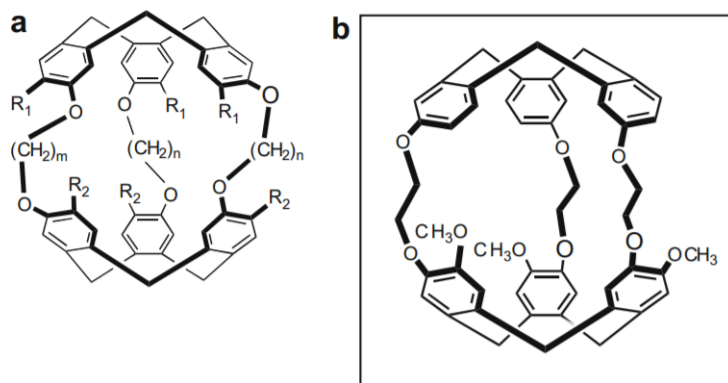
Kuva 4: SEOP-menetelmässä käytetty laitteisto. Laserdiodilta kohdistetaan monokromaattista 795 nm valoa polarisaattoriin, josta ympyräpolarisoitunut valo ohjataan polarisaatiokammioon. Kammiossa rubidiumin elektronit viritetään spin-ylöstilaan. Tämä elektronien polarisaatio siirtyy ksenonytimiin spin-vaihtotörmäyksissä [1].

2.3 Isäntämolekyylit

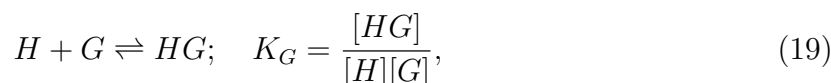
Isäntämolekyylit/häkkirakenteet ovat välttämätön osa ksenonbiosensoria. Useat ksenonin ominaisuudet, kuten resonanssitaajuus ja sitoutumisnopeudet, riippuvat häkkirakenteen koosta ja mahdollisista funktionaalisista ryhmistä, sekä liuottimen laadusta. Häkkirakenteet mahdollistavat ksenonin tuomisen haluttuun kohteeseen ja tekevät menetelmästä, funktionaalisten ryhmiensä avulla, hyvin spesifisen. Ne myös usein parantavat ksenonin ominaisuuksia, esimerkiksi tekemällä ksenonin kemiallisesta siirtymästä vielä entistäkin herkemmän. Heti alussa on syytä mainita, että ksenon-isäntäkompleksi ei ole pysyvä rakenne, vaan hyvin dynaaminen systeemi. Vapaan ja sidotun ksenonin väliset vaihtonopeudet ovat luokkaa 10^3 vaihtoa/s. Tämä ns. *isäntä-vieraskemia* on supramolekulaarisen kemian osa-alueena hyvin tuore tutkimuksen kohde. Isäntänä ksenonille ei voi toimia mikä tahansa supramolekulaarinen rakenne, vaan biosensorikäyttö asettaa isännille tiettyjä vaatimuksia [1, 2]:

1. Isäntämolekyylillä tulee olla korkea affiniteetti ksenonille. Tämä tarkoittaa sitä, että kaviteetin tulee olla hydrofobista aluetta. Sisällä ei kuitenkaan muodostu kovalenttisiä sidoksia, vaan dispersiivoimat (van der Waalsin voimat) dominoivat. Nämä sidokset kestävät vain millisekunteja. Affiniteettiin vaikuttaa suuresti kaviteetin koko. Optimisuhde vieraan tilavuuden ja kaviteetin tilavuuden välillä on 0,55 yhden ksenonin häkille [15]. ^{129}Xe :lle tämän optimisuhteen mukainen kaviteettikoko on noin 75 \AA^3 .

2. Isäntämolekyylin tulee mahdollistaa sisään-ulosvaihdoksia ksenonille. Hetkellisten sidoksien katkettua täytyy uuden hyperpolarisoidun ksenoniatomin päästä sisälle. Vapaan ja sidotun ksenonin vaihtonopeuksia voidaan kuvata tasapainoreaktiolla



Kuva 5: Kryptofaanihäkin perusrakenne. a) Anti-isomeeri. b) Syn-isomeeri [16].



jossa H kuvaa isäntämolekyyliä (host), G vierasta (guest) ja K_G reaktion tasapainovakiota. Usein K_G :stä puhutaan *sitoutumisvakiona*. Se on hyvin lämpötilariippuvainen. Tällä vaihdosnopeudella on NMR-aikaskaalan takia tiettyjä vaatimuksia. Vangitun ksenonin signaali havaitaan vain, kun sen ja vapaan ksenonin välinen kemiallisen siirtymän ero yksikössä ν^{-1} on lyhyt (eli taajuusero on riittävän suuri) verrattuna aikaan, jonka ksenon viettää häkissä. Eli ksenonin pitää olla tarpeeksi kauan sisällä, mutta kuitenkin vaihtua ympäristön kanssa riittävän usein. Kokeita tehdessä tämä tilanne pitää siis optimoida.

3. Ksenonin relaksaation tulisi olla mahdollisimman minimaalista kaviteetin sisällä, jotta tarkka signaali ehditään tuottaa.

4. Kun käytössä on yhtä aikaa useita biosensoreita useilla eri funktionaalisilla ryhmillä, täytyy kemiallisen siirtymän olla täysin erotettavissa eri biosensoreilla.

5. Kyky siirtää suuri tiheys ksenonia kohteeseen. Joissain tapauksissa häkkiin voidaan kiinnittää esimerkiksi nanorakenne, joka mahdollistaisi useamman kuin yhden hyperpolarisoidun ksenonin kuljettamisen kohteeseen kerralla.

6. Riittävän iso kemiallisen siirtymän ero vapaan ja sidotun ksenonin välillä on myös suotuisaa. Vapaata ksenonia on sitoutuneeseen ksenoniin verrattuna valtavasti kohteessa, joten sen piikki on paljon voimakkaampi kuin sidotun ksenonin (Kuva 2).

2.3.1 Kryptofaanit

Kryptofaanit, jotka löydettiin jo vuonna 1981 [17], ovat yksi tärkeimmistä isäntämolekyyleistä ksenonbiosensorisovellusta varten. Suurin osa tämän alueen tutkimuksesta tehdään juuri niitä käyttäen. Niillä on suurin koskaan mitattu affiniteetti ksenonille. Kryptofaanit koostuvat kahdesta *CTV-kulhosta* (cyclotrimeratrylene = syklotriveratryleeni), jotka ovat sitoutuneena toisiinsa alkoksyyliisidoksilla. Ne voivat esiintyä joko *anti*- tai *syn*-konformeereinä (Kuva 5). Kryptofaaniin kaviteetin hydrofobisen luonteen takia ne pystyvät sisällyttämään lukuisia eri neutraaleja atomeja tai molekyyliä, kuten vesi ja kloroformi. Näistä kaikista ksenonin kanssa kilpailee merkittävästi ainoastaan kloroformi, joten se on huono liuotINVALINTA [1]. Kryptofaanit ovat kuitenkin aromaattisia yhdisteitä,

joten ne eivät liukene proottiseen liuottimeen tai väliaineeseen (veteen), eli liuottimeen, joka pystyy luovuttamaan tai vastaanottamaan protonin. Tätä varten joko kryptofaania tai liuosta täytyy muunnella. Usein kryptofaaniin kiinnitetäänkin joitain liukenevuutta edistäviä yksiköitä, jotka voivat parantaa myös ksenonin ominaisuuksia, esimerkiksi kemiallisen siirtymän herkkyyttä [18].

Kryptofaanit eroavat toisistaan CTV-kulhojen välisten sidosten lukumäärässä. Kuvassa 5 tätä on merkitty kirjaimilla m ja n . Tämän lisäksi reunoille voi olla sitoutuneena eri yksiköitä, kuvassa $R1$ ja $R2$. Jos $m = n$ ja $R1 = R2$, niin kryptofaanien anti-isomeerit ovat kiraalisia, kun taas syn-isomeerit ovat akiraalisia. Ksenonin sitoutumisvakion ja kaviteetin koon välillä on havaittu 1,1,2,2-tetrakloroetaaniliuoksessa lineaarinen riippuvuus neljälle kryptofaanille, joilla $m = 2$ ja $n = 3$, sekä $R1 = R2 = \text{OCH}_3$ [19]. Mitä pienempi kaviteetin koko on, sitä selektiivisempi se on nimenomaan ksenonin sisällyttämiselle. Suurin osa kehon hydrofobisista yhdisteistä, kuten lipidit, eivät mahdu kaviteettiin. Tämä sama ilmiö (pieni kaviteetti johtaa sitoutumisvakion kasvuun) havaitaan melkein kaikilla kryptofaaneilla.

Näiden kriteerien nojalla parhaita ovat isäntämolekyylit, jotka perustuvat johonkin seuraavista: kryptofaani-111, kryptofaani-A (tai -222), ja ehkä kryptofaani-223 [2]. Näistä käytetyin on kryptofaani-A, jolle $R1 = R2 = \text{OCH}_3$ ja $n = m = 2$. Nimen jälkeen kirjain A viittaa anti-isomeeriin ja kolme numeroa viittaavat $-\text{CH}_2$ -ryhmien lukumäärään.

On myös ehdotettu, että menetelmän herkkyyttä voisi entisestään lisätä kasvattamalla paikallista biosensoritiheyttä liittämällä häkkeitä dendrimeereihin. 11 kryptofaani-222:sta onnistuttiin liittämään, jonka seurauksena signaali-kohinasuhde nousi kahdeksankertaiseksi [20].

2.3.2 Kukurbiturilit

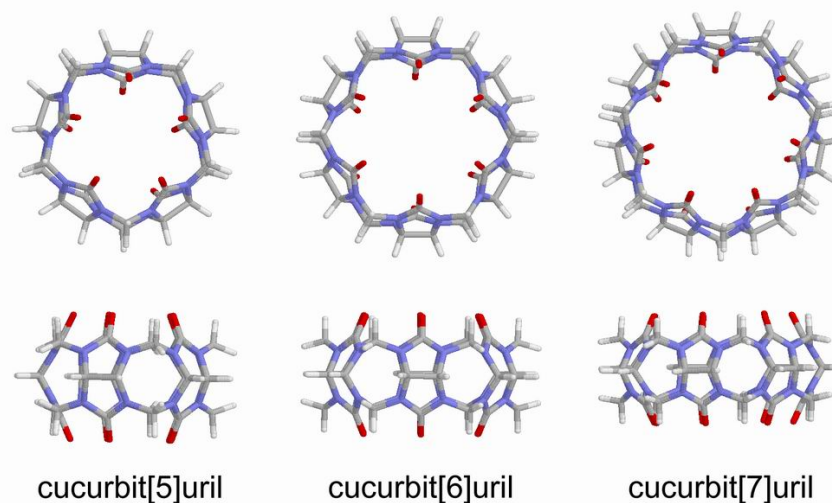
Toinen mahdollinen ehdokas isäntärakenteeksi ovat *kukurbiturilit*. Ne ovat makrosyklisiä molekyylijä, ja rakentuvat glykolurilimonomeereista, jotka ovat kiinni toisissaan metyleeniryhmillä. Muodoltaan kukurbiturilit muistuttavat hieman toridia tai kurpitsaa, josta niiden nimikin on peräisin (Kuva 6). Ne ovat todella jäykkiä molekyylijä, ja kaviteettikoot vaihtelevat välillä $82 \text{ \AA}^3 - 870 \text{ \AA}^3$. Näistä tekee mielenkiintoisia niiden hidas sisään-ulos vaihtonopeus ksenonille. Kukurbiturilit eivät kryptofaanien tapaan myöskään liukene veteen, joten ne vaativat liukenevuutta edistäviä yksiköitä. Esimerkiksi kukurbit[7]urilia on tutkittu isäntärakenteena ksenonille proteiineja tunnistaessa [21].

Myös joitain erikoisempia häkkirakenteita on kokeiltu, kuten supramolekulaarista, itseorganisoituvaa Fe_4L_6 metallihäkkiä [22].

2.4 Epäsuorat havaintomenetelmät

Epäsuorissa havaintomenetelmissä on ideana manipuloida ksenonytimien spinejä ja magnetoitumaa alkuperäisessä hyperpolarisointiympäristössä, sitten siirtää ytimit kohdeympäristöön, antaa kemiallisen vaihdon tapahtua ja lopuksi havaita ksenonbiosensorien signaali epäsuorasti vapaana olevien ksenonytimien avulla [23, 24].

Ensimmäinen osa tehdään yleensä ns. *saturaation siirrolla*, jossa ytimien magnetisaatiota siirretään havaintoympäristöön. Tästä tulee nimi CEST (chemical exchange saturation transfer). Näytteeseen kohdistetaan radiotaajuinen saturaatiopulssi valikoivas-



Kuva 6: Kukurbiturilien perusrakenne. Nimen hakasulkeissa oleva osa viittaa glykoluriliyksiköiden lukumäärään [Wikipedia].

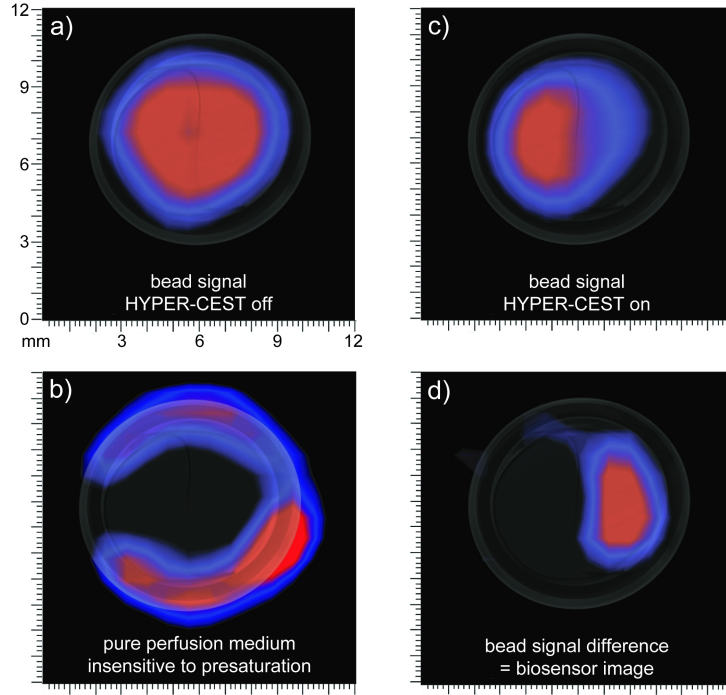
ti spektrin eri osiin. Tämän jälkeen havaintoympäristön signaalin intensiteetti voidaan piirtää saturaatiopulssien taaajuuden funktiona (ns. z -spektri). Toisessa osassa havaittavaan näytteeseen kohdistetaan valikoituja virityspulsseja tietyillä intervalleilla. Pulssien välissä magnetoituma ehtii kääntyä, jonka jälkeen näytteestä pystytään ottamaan NMR-spektri. Avaruudellinen tieto saadaan intervalliaikaa kasvattamalla, ja tekemällä saatuun dataan Fourier-muunnos.

Hyperpolarisoitujen ytimien (eli myös ksenonin) tapauksessa menetelmästä käytetään nimeä Hyper-CEST [14]. Ksenonilla on hyvin laaja kemiallisen siirtymän spektri biosensorisovelluksessa (vapaa ksenon vesiliuoksessa n. 190 ppm vs. kahlittu ksenon n. 60 ppm verrattuna signaaliin kaasufaasissa), jonka takia Hyper-CEST sopii ksenonille todella hyvin. Biosensorin heikkoa signaalia voidaan hyvin selektiivisesti saturoida samalla havaiten vapaan ksenonin voimakasta signaalia.

Käytännössä ksenoniin kohdistetaan depolarisoiva pulssi kun se on biosensorissa. Häkin sisään tulee vapaa hyperpolarisoitunut ksenon ja häkistä ulos depolarisoitunut ksenon. Satoja tuhansia ksenonatomeja menee isäntämolekyylin läpi saturaatiopulssin aikana, jolloin saatu depolarisaatio on suuri. Depolarisoidusta ksenonista ei saada enää NMR-signaalia, jolloin vapaan ksenonin signaalin intensiteetti laskee. Kun säteilytystä jatketaan tarpeeksi kauan, on vapaan ksenonin signaali laskenut huomattavasti verrattuna kokeen alussa saatuun signaaliin. Kun tämä lopullinen spektri vähennetään kokeen alussa saadusta spektristä, saadaan epäsuorasti kuva ksenoneista, jotka ovat depolarisoituneet häkin sisällä (Kuva 7). Tämä on valtava etu verrattuna suoraan kuvaan, jossa vain kahlitun ksenonin signaali havaitaan, koska haluttuun kohteeseen sitoutuneita biosensoreita on todella vähän verrattuna vapaisiin ksenonatomeihin.

3 Laskennalliset menetelmät

Kun tutkitaan mikroskooppisia systeemejä, esimerkiksi molekyyliä, on kvanttimekaniikka hyvin merkittävässä roolissa. Tarpeeksi pienessä mittakaavassa aine ei käyttäydy niin



Kuva 7: a) Kuva ennen kokeen aloittamista. b) Puhdas havaintoympäristön signaali, johon saturaatio ei ole vaikuttanut. c) Signaali kun Hyper-CEST on aloitettu. d) Lopullinen kuva, jossa kuvasta a) on vähennetty kuva c). Näin saadaan epäsuorasti tarkka kuva itse ksenonbiosensoreista [14, 25].

kuin olemme yleensä tottuneet. Kvanttimekaaniset ominaisuudet ja *hiukkasten aaltoluonne* johtavat hyvin erikoisiin, mutta mielenkiintoisiin seurauksiin, joita klassinen fysiikka ei pysty selittämään.

Ksenonbiosensorien tapauksessa kyse on monielektronisysteemistä. Myös biosensorin kemiallisella ympäristöllä on suuri vaikutus systeemin kuvaukseen. Tällaisten systeemien laskennallista tutkimusta kutsutaan laskennalliseksi kemiaksi tai *kvanttikemiaksi*. Se tutkii atomeja, molekyyliä ja kiinteää ainetta kvanttimekaanisin mallein.

3.1 Schrödingerin yhtälö

Monielektronisysteemejä kuvaa niiden elektronirakenne ja systeemin *aaltofunktio* Ψ , joka on ratkaisu *ajasta riippumattomalle Schrödingerin yhtälölle*

$$\hat{H}\Psi_n(\mathbf{r}) = -\frac{\hbar^2}{2m}\nabla^2\Psi_n(\mathbf{r}) + V(\mathbf{r})\Psi_n(\mathbf{r}) = E_n\Psi_n(\mathbf{r}), \quad (20)$$

jossa alaindeksi n viittaa systeemin tilaan, $\Psi(\mathbf{r})$ on paikasta riippuva aaltofunktio, ∇ on gradienttioperaattori, $V(\mathbf{r})$ on paikasta riippuva potentiaalifunktio, $\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m}\nabla^2 + V(\mathbf{r})$ on systeemiä kuvaava *Hamiltonin operaattori* ja E_n on systeemin energia tilassa n . Schrödingerin yhtälö on siis ominaisarvoyhtälö systeemin energialle.

Aaltofunktio kuvaa systeemin tilaa täydellisesti [26]. Monielektronisysteemin koon tarkkaa analyttisen ratkaisun löytäminen Schrödingerin yhtälölle on mahdotonta, jolloin erilaiset approksimaatiot tulevat pakollisiksi. Käytännössä aina lähdetään liikkeelle *Bornin*

ja *Oppenheimerin approksimaatiosta*, jonka mukaan systeemin elektronien ja ytimien liike voidaan erottaa toisistaan. Tämä tarkoittaa sitä, että systeemin aaltofunktiossa nämä eri osat voidaan separoida [27]. Elektronien aaltofunktio voidaan ratkaista kullekin ydinten hetkellisille paikoille ikään kuin ytimet eivät liikkuisi. Elektronien aaltofunktio kuvaa systeemin elektronirakennetta.

Molekyylisysteemiä, jossa on N elektronia ja M ydintä, kuvaa BO-approksimaation mukainen ns. ”isojen termien” Hamiltonin operaattori (nimestä lisää luvussa 3.2)

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i^N \nabla_i^2 - \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \sum_i^N \sum_I^M \frac{Z_I}{r_{Ii}} + \frac{e^2}{8\pi\epsilon_0} \sum_{ij}^n \frac{1}{r_{ij}}, \quad (21)$$

jossa m_e on elektronin massa, ∇_i on on gradientti joka operoi elektroniin i , e on alkeisvaraus, Z_I on ytimen I massaluku, r_{Ii} on ytimen I ja elektronin i välinen etäisyys ja r_{ij} on elektronin i ja elektronin j välinen etäisyys. Ensimmäinen, toinen ja kolmas termi vastaavat elektronien kineettistä energiaa, elektroni-ydinattraktiota ja elektroni-elektronirepulsiota.

Aaltofunktio-*ab initio* laskuja tehdään *ab initio* -menetelmillä. Systeemiä kuvaavalle aaltofunktiolle valitaan malli, ja Schrödingerin yhtälö ratkaistaan likimääräisesti käyttäen vain atomien järjestyslukuja ja luonnonvakioita. Koska ksenon on raskas jalokaasu, täytyy suhteellisuusteoria ottaa useissa tapauksissa huomioon. Tällöin aaltofunktio on nelivektori. Kvanttikemia tarjoaa monipuolisia ja vahvoja työkaluja monielektronisysteemejä koskeviin ongelmiin.

3.2 Elektronirakenne

Systeemin elektronirakennetta kuvataan *orbitaaliteorian* avulla. Elektronien ajatellaan miehittävän *toisistaan riippumattomia 1-hiukkastiloja*, joita vastaavat aaltofunktiot ovat orbitaaleja. Elektronien todennäköisyys olla eri osissa orbitaaleja määräytyy aaltofunktion itseisarvon neliön mukaan.

Kvantitatiivisia tuloksia varten täytyy huomioida mahdollisimman suuri osa systeemin vuorovaikutuksista, mukaan lukien tarkka elektronien välinen vuorovaikutus. Näitä ovat esimerkiksi ulkoisten sähkö- ja magneettikenttien vaikutus ja ylihieno vuorovaikutus. Vuorovaikutuksia käsitellään käytännössä aina approksimatiivisesti. Esimerkiksi elektronien välinen vuorovaikutus on Hartreen ja Fockin teoriassa mukana vain keskimääräisesti. Tämän takia sanotaan, että (21) on isojen termien hamiltoni. Vuorovaikutusten huomioon ottamiseen on useita eri lähestymistapoja. Tässä luvussa tutustutaan joihinkin yleisimpiin ksenonbiosensorien tapauksessa käytettäviin laskennallisiin menetelmiin.

3.2.1 Hartree-Fock

Yksi approksimatiivinen menetelmä on *Hartreen ja Fockin (HF) teoria* [27]. HF-laskuissa pyritään selvittämään systeemin perustilan elektronirakenne orbitaaliapproksimaationa.

Elektronisysteemin aaltofunktion tulee noudattaa elektronien antisymmetrian ja Paulin kieltoäännön asettamia rajoituksia. Kun kahden elektronin koordinaatteja vaihdetaan, täytyy aaltofunktion merkki vaihtua, ja jos enemmän kuin yksi elektroni on yhtä

aikaa samassa kvantttilassa, täytyy aaltofunktion hävitä. Näiden rajoitusten takia monielektronisysteemin aaltofunktio on kätevä kirjoittaa *Slaterin determinantin* avulla [24]. N elektronin systeemille se on $N \times N$ matriisin determinantti

$$\Psi(1, 2, \dots, N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(1) & \phi_2(1) & \dots & \phi_N(1) \\ \phi_1(2) & \phi_2(2) & \dots & \phi_N(2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(N) & \phi_2(N) & \dots & \phi_N(N) \end{vmatrix}, \quad (22)$$

jossa $\phi_i(n)$ kuvaa yhden elektronin *spinorbitaalia*, joka yhdistää elektronin spinin ja avaruudellisen tilan. HF on iteratiivinen menetelmä, jossa elektronirakenteen alkuarvausta parannetaan joka askeleella. Tällaisia itseään korjaavia menetelmiä kutsutaan SCF-menetelmiksi (Self-Consistent Field). Aaltofunktion muotoa ei siis aluksi tunneta, mutta se voidaan löytää soveltamalla *variaatioperiaatetta*.

Variaatioperiaate on systemaattinen menetelmä lähestyä aaltofunktion perustilaa Ψ_0 ja sitä vastaavaa energiaa E_0 . Oletetaan, että systeemiä kuvaa Hamiltonin operaattori \hat{H} ja merkitään Schrödingerin yhtälön alinta ominaisarvoa E_0 . Variaatioperiaatteen mukaan mielivaltaiselle aaltofunktiolle Ψ_{trial} ja sen energian odotusarvolle E_{trial} on voimassa [27]

$$\langle \Psi_{\text{trial}} | \hat{H} | \Psi_{\text{trial}} \rangle = \frac{\int \Psi_{\text{trial}}^* \hat{H} \Psi_{\text{trial}} d\tau}{\int \Psi_{\text{trial}}^* \Psi_{\text{trial}} d\tau} = E_{\text{trial}} \geq E_0, \quad (23)$$

jossa on käytetty Diracin bra-ket merkintää. Tätä perustilaa voidaan siis iteratiivisesti lähestyä. Energiafunktio minimoidaan, joka johtaa ns. HF-yhtälöihin. Ne kuvaavat elektronien liikettä toisten elektronien ja ytimien muodostamassa keskimääräisessä sähköstaattisessa kentässä.

Parhaimmillaankin kvantitatiivisia tuloksia haluttaessa HF on kuitenkin keho, koska se sisällyttää elektroni-elektronivuorovaikutuksen vain keskimääräisesti. Tätä varten on kehitetty ns. elektronikorrelaatiomenetelmiä, joista erityisesti *tiheysfunktioaaliteoria* (Density Functional Theory = DFT) on tämän tutkielman kannalta tärkeä. Näissä kaikissa on lähtökohtana jokin elektronikorrelaation hylkäävä aaltofunktio, jota kalibroidaan kohti todellista systeemin aaltofunktiota.

Toinen tapa kuvata systeemiä ovat ns. HF-johdannaiset (tai korreloidut ab initio -menetelmät). Ne ovat normaalia HF-teoriaa kehittyneempiä, aaltofunktioihin perustuvia teorioita, jotka ottavat paremmin huomioon elektronien välisen korrelaatioenergian. Näitä ovat muun muassa Coupled Cluster- ja Multiconfigurational SCF -menetelmä, sekä Møller-Plesset -häiriöteoria. Näihin ei kuitenkaan häiriöteorian perusajatuksen lisäksi ole tässä tutkielmassa syytä syvemmin tutustua, koska ksenonbiosensoreita koskevissa tutkimuksissa DFT ja sen johdannaiset ovat selkeästi suosituin menetelmä.

3.2.2 Häiriöteoria

Häiriöteoriassa systeemiä kuvataan ensin yksinkertaisella mallilla (referenssisysteemi), jonka ratkaisut ovat mahdollisimman tarkasti tiedossa. Tämän jälkeen mallia aletaan systemaattisesti parantamaan, joka tarkoittaa \hat{H} :n täydentämistä puuttuvilla termeillä. Esimerkkejä ovat HF-malli elektronikorrelaation häiriöteoreettiseen käsittelyyn ja isojen \hat{H} :n termien suhteen optimoitu elektroninen tila magneettisten vuorovaikutusten käsittelyyn.

Tutkittua systeemiä kuvaava Hamilton \hat{H} voidaan jakaa mallisysteemin Hamiltoniin $\hat{H}^{(0)}$ ja joko ajasta riippuviin tai riippumattomiin häiriöihin $\hat{H}^{(1)}$, $\hat{H}^{(2)}$, $\hat{H}^{(3)}$, ..., siten että

$$\hat{H} = \hat{H}^{(0)} + \lambda\hat{H}^{(1)} + \lambda^2\hat{H}^{(2)} + \lambda^3\hat{H}^{(3)} + \dots, \quad (24)$$

jossa kertoimen λ tarkoitus on auttaa identifioimaan häiriön kertaluku. Tässä on oletettu, että mallisysteemi poikkeaa todellisesta systeemistä vain vähän. Usein sarja katkaistaan jonkin kertaluvun kohdalta. Saatu approksimaatio on sitä tarkempi, mitä enemmän termejä voidaan laskennallisten kustannuksien rajoissa sisällyttää. Häiriöteoria sopii erinomaisesti heikkojen ulkoisten sähkö- ja magneettikenttien vaikutuksen käsittelyyn.

3.3 Kantajoukot

Ennen elektronikorrelaatiomenetelmiin tutustumista on syytä mainita *kantajoukkojen* merkitys systeemin aaltofunktiota valittaessa. Monielektronisten atomien orbitaalit noudattavat pitkälti vedynkaltaisten atomien (ainoa atomiryhmä, jolle Schrödingerin yhtälö voidaan analyttisesti ratkaista) orbitaalien muotoja, mutta molekyyleissä ytimet ja atomien suhteelliset sijainnit määräävät elektronirakenteen muodon. LCAO (linear combination of atomic orbitals) on menetelmä kuvata molekyyliorbitaaleja ϕ yksinkertaisempien atomiorbitaalien χ lineaarikombinaatioina [27]. Voidaan siis kirjoittaa

$$\phi = \sum_r c_r \chi_r, \quad (25)$$

jossa c_r on kunkin atomiorbitaalin painotuserroin. Käytetyt atomiorbitaalit muodostavat kantajoukon. Näin rakennettu aaltofunktio ei siis ole monen hiukkasen systeemille eksakti. Kantajoukkojen avulla voidaan siirtyä funktioiden ϕ optimoinnista kertoimien c optimointiin. Schrödingerin yhtälö muuttuu siis differentiaaliyhtälöstä matriisiyhtälöksi, joiden ratkaisemiseen on etenkin laskennallisesti monia tehokkaita menetelmiä.

Elektronirakennelaskuissa täydellistä kantajoukkoa tulisi periaatteessa käyttää spinorbitaaleja kuvatessa, ja äärettömän monen kantafunktion käyttäminen antaisi variaatioperiaatteen mukaisen energian. Tätä energiaa kutsutaan HF -*rajaksi*. Tämä ei ole yhtäsuuri kuin todellisen perustilan energia, koska HF sisältää elektronikorrelaation vain keskimääräisesti. Käytännössä kantafunktioiden määrä on kuitenkin äärellinen. Tästä epätäydellisyydestä syntyy aina systemaattinen virhe perustilaa kuvattaessa. Tämän eron suuruus on HF-rajan ja lasketun energian erotus. Optimaaliset kertoimet c_r voidaan löytää variaatioperiaatetta soveltamalla. Kantajoukkojen järkevä valinta on siis hyvin tärkeää, ettei virhe kasva liian suureksi, mutta toisaalta, että laskennalliset kustannukset pysyvät pieninä [27]. Molekyyliorbitaalimenetelmän vaatima laskennallinen työ kasvaa tyypillisesti käytetyn kantajoukon kantafunktioiden lukumäärän jonkin potenssin mukaan.

Kantafunktioiksi valitaan yleensä reaalisia funktioita. Yksi mahdollinen valinta ovat *Slaterin orbitaalit* (Slater type orbitals = STOs). Ne rakennetaan käytännössä eksponenttifunktion ja palloharmonisen funktion tulona, joiden eksponenttien arvot valitaan tiettyjen valintasääntöjen ja taulukkojen avulla (moderneissa numeerisissa töissä eksponentit ζ optimoidaan esim. atomilaskuja käyttäen). Ne ovat muotoa

$$\chi(r, \theta, \phi) = N r^a e^{\zeta r} Y(\theta, \phi), \quad (26)$$

jossa N on normituskerroin, a ja ζ ovat valintasääntöjen mukaiset eksponentit ja Y on palloharmoninen funktio, joka on sama kuin analyttisissä vedynkaltaisten atomien ratkaisuisissa. Parhaat eksponenttien arvot saadaan sovittamalla STO-funktiot numeerisesti tuotettuihin atomiorbitaaleihin.

Toinen mahdollinen valinta ovat *Gaussin orbitaalit* (Gaussian-type orbitals, GTOs), joiden kehittämällä on ollut suuri vaikutus ab initio -laskujen vaatiman laskennallisen työn keventämisessä. Karteesisessa koordinaatistossa ne ovat muotoa

$$\chi_{ijk}(\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_c) = N(x_1 - x_c)^i (y_1 - y_c)^j (z_1 - z_c)^k e^{-\alpha|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_c|^2}, \quad (27)$$

jossa N on normituskerroin, (x_c, y_c, z_c) ovat Gaussin funktion keskikohdan koordinaatit pisteessä \mathbf{r}_c ; (x_1, y_1, z_1) ovat elektronin koordinaatit pisteessä \mathbf{r}_1 ; i, j , ja k ovat epänegatiivisia kokonaislukuja ja α on positiivinen eksponentti. Kun $i = j = k = 0$, niin Gaussin funktio kuvaa s -orbitaalia. Näiden funktioiden lineaarikombinaatioita voidaan käyttää kuvaamaan eri molekyyliorbitaaleja.

GTO-kantajoukon suurin etu on, että *kahden Gaussin funktion tulo eri keskikohdilla on yhtäsuuri kuin yksi Gaussin funktio jonka keskikohta on näiden kahden keskikohtien välissä*. Tämä helpottaa laskentaa huomattavasti, koska kolmen tai neljän keskikohdan integraaleista päästään kahden keskikohdan integraaleihin. Ongelmana on kuitenkin $1s$ -vetyatomiorbitaalin, eli eksponenttifunktion, kärkipiste (nuclear cusp) pistemäisenä kuvattun ytimen kohdalla. STO-funktioilla on myös tämä kärkipiste ytimen kohdalla, mutta GTO-funktioilla ei. Tämän ongelman helpottamiseksi useita GTO-funktioita yhdistetään ns. kontraktoiduksi GTO:ksi.

On useita tapoja rakentaa tällainen kontraktoitu GTO. Yksi tapa on tehdä pienimmän neliösumman sovitus K :sta Gaussin funktiosta STO-kantajoukkoon, joka on optimoitu jollain variaatiomenetelmällä. Yksi suosittu valinta on $K = 3$, jolloin saaduista kontraktoiduista Gaussin funktioista käytetään merkintää STO-3G [27].

3.4 Tiheysfunktionaaliteoria

Tiheysfunktionaaliteorian mukaan monielektronisysteemin energia määräytyy täysin elektronien todennäköisyystiheyden mukaan [28, 29]. Tämä on kvanttikemistien keskuudessa suosittu menetelmä, koska N elektronin systeemiä voidaan kuvata $3N$ -ulotteisen aaltofunktion sijaan 3 -ulotteisen elektronitiheysfunktionaalin avulla, jolloin laskennalliset kustannukset vähenevät huomattavasti. Jos pisteessä \mathbf{r} elektronitiheys on $\rho(\mathbf{r})$, niin systeemin energia on tämän tiheysfunktion funktionaali $E[\rho(\mathbf{r})]$. Jokaista pistettä vastaa yksi elektronitiheysfunktio, ja näistä kaikista pisteistä muodostuva funktionaali vastaa energian arvoa.

3.4.1 Kohnin ja Shamin menetelmä

Tiheysfunktionaaliteoriassa käsitellään systeemejä, joissa aaltofunktio rakennetaan saman tapaisilla yhden elektronin orbitaaleilla kuin Hartree-Fock -teoriassa. Perustilan energia N elektronin ja M ytimen systeemille voidaan kirjoittaa

$$E[\rho] = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_{i=1}^N \int \psi_i^*(\mathbf{r}_1) \nabla_1^2 \psi_i(\mathbf{r}_1) d\mathbf{r}_1 - \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \sum_{I=1}^M \int \frac{Z_I}{r_{I1}} \rho(\mathbf{r}_1) d\mathbf{r}_1 + \frac{e^2}{8\pi\epsilon_0} \int \frac{\rho(\mathbf{r}_1)\rho(\mathbf{r}_2)}{r_{12}} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 + E_{XC}[\rho], \quad (28)$$

jossa yhden elektronin orbitaalit ψ_i ($i = 1, 2, \dots, N$) ovat ns. Kohn-Sham (KS)-orbitaaleja. Kolme termiä kuvaavat jälleen elektronien liike-energiaa, sähköistä attraktiota ja sähköistä repulsiota. Perustilan eksakti elektronitodennäköisyystiheys on

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(\mathbf{r})|^2, \quad (29)$$

jossa summa käy yli kaikkien miehitettyjen KS-orbitaalien; ρ tiedetään kun nämä orbitaalit saadaan laskettua. KS-orbitaalit löydetään soveltamalla variaatioperiaatetta yhtälöön (28), jolloin päästään ns. Kohn-Sham -yhtälöihin, jotka muistuttavat yhden elektronin Schrödingerin yhtälöitä.

Ongelmana on, että DFT ei suoraan kerro elektronien välisen energian E_{XC} (vaihtokorrelaatiofunktionaalin) tarkkaa muotoa, vaan ainoastaan sen, että tällainen on olemassa. Tätä varten on kehitetty useita erilaisia approksimaatioita, jotka voivat sisältää empiirisiä korjauksia, ja yhä tarkempien funktionaalien löytäminen on vieläkin aktiivinen tutkimuksen kohde. Yksi menetelmä on LDA (Local Density Approximation). Siinä vaihtokorrelaatiofunktionaali kirjoitetaan

$$E_{XC} = \int \rho(\mathbf{r}) \epsilon_{XC}[\rho(\mathbf{r})] d\mathbf{r}, \quad (30)$$

jossa $\epsilon_{XC}[\rho(\mathbf{r})]$ on vaihto-korrelaatioenergia yhtä elektronia kohden homogeenisessa elektronikaasussa, jonka elektronitiheys pysyy vakiona. LDA:n laajennus on LSDA (Local Spin-Density Approximation), joka ottaa huomioon erot eri spin-tiloissa olevien hiukkasten tiheyksissä. Näiden molempien heikkoutena on elektronitiheyden oletaminen vakioksi. Tätä varten on kehitetty useita erilaisia gradienttikorjattuja funktionaaleja. Yleisesti gradienttikorjattua LDA:ta (tai LSDA:ta) kutsutaan GGA:ksi (Generalized Gradient Approximation), joka ottaa elektronitiheyden epähomogeenisuuden huomioon $\rho(\mathbf{r})$:n gradientin muodossa. Yksi suosituksissa käytössä oleva vaihto-korrelaatiofunktionaali on BLYP (Becke, Lee, Yang, Parr) [30, 31].

Edellisten lisäksi ns. hybridifunktionaalit käyttävät HF-korjauksia DFT-lähtöisten laskujen yhteydessä. Esimerkkinä tästä on todella suosittu B3LYP-funktionaali. Siinä elektronien välinen (vaihto-) energia yhdistetään HF-teoriasta saadun eksaktin vaihtoenergian kanssa.

HF ja DFT eroavat siis periaatteellisesti toisistaan; ab initio -laskuissa \hat{H} on vakio ja Ψ :ta parannetaan systemaattisesti, kun taas DFT:ssä Ψ on vakio ja \hat{H} :ta parannetaan.

3.5 Laskennallinen NMR

Luvussa 1 puhuttiin ytimen kemiallisen ympäristön vaikutuksesta sen kohdalla vaikuttavaan magneettikenttään \mathbf{B} . Kvanttimekaanisesti ympäristön vaikutusta ja NMR-spektrin

pääpiirteitä voidaan selittää kirjoittamalla efektiivinen NMR-spinhamiltoni [32], joka on M ytimen systeemille yleensä muotoa

$$\hat{H}_S(\text{NMR}) = - \sum_{K=1}^M \hbar \gamma_K \mathbf{B}_0 \cdot (\mathbf{1} - \boldsymbol{\sigma}_K) \cdot \mathbf{I}_K + \frac{\hbar^2}{2} \sum_{K=1}^M \sum_{\substack{L=1 \\ L \neq K}}^M \gamma_K \gamma_L \mathbf{I}_K \cdot (\mathbf{D}_{KL} + \mathbf{J}_{KL}) \cdot \mathbf{I}_L, \quad (31)$$

jossa $\hbar \gamma_K$ tulee magneettisen dipolimomentin määritelmästä (4), $\mathbf{1}$ on yksikkötensori, $\boldsymbol{\sigma}_C$ on ytimen varjostustensori, sekä \mathbf{D}_{KL} ja \mathbf{J}_{KL} ovat suora dipolivuorovaikutus- ja spin-spin -kytkentätensori ydinten K ja L välillä. Spinhamiltoni kirjoitetaan usein taa-juusyksikössä E/h . Tätä ei tule sekoittaa todelliseen kvanttimekaaniseen Hamiltonin operaattoriin. Efektiivinen hamiltoni on koottu parametrisoituista matriiseista, jotka sopivat kokeellisiin tuloksiin.

Hamiltonista on useita tapoja päästä varjostuksen arvoihin. Yksi tapa on käyttää Biot-Savartin lakia. Ytimen kohdalla vaikuttava magneettikenttä \mathbf{B} on summa ulkoisesta magneettikentästä \mathbf{B}_0 ja varjostuksen takia indusoituneesta magneettikentästä \mathbf{B}_{ind}

$$\mathbf{B} = \mathbf{B}_0 + \mathbf{B}_{\text{ind}}. \quad (32)$$

Kun oletetaan että ulkoinen magneettikenttä on homogeeninen, voidaan indusoitunut magneettikenttä pisteessä \mathbf{s} laskea Biot-Savartin lailla

$$\mathbf{B}_{\text{ind}} = - \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{\mathbf{j}(\mathbf{r}) \times (\mathbf{r} - \mathbf{s})}{|\mathbf{r} - \mathbf{s}|^3} d\mathbf{r}, \quad (33)$$

jossa $\mathbf{j}(\mathbf{r})$ on virtatiheys pisteessä \mathbf{r} . Kun tämä virtatiheys on saatu laskettua, voidaan varjostus määrittää yhtälöllä

$$\mathbf{B}_{\text{ind}}(\mathbf{s}) = -\boldsymbol{\sigma}(\mathbf{s}) \cdot \mathbf{B}_0. \quad (34)$$

Virtatiheyden määrittämiseen voidaan käyttää esimerkiksi HF-laskuja tai DFT:tä. Aaltofunktio voidaan optimoida \mathbf{B}_0 :sta riippuvien termien läsnäollessa ja laskea varjostus saadun energian numeerisena derivaattana (ns. äärellinen häiriöteoria).

Toinen, paljon yleisempi tapa on kehittää systeemin kokonaisenergia häiriöteorian avulla Taylorin sarjaksi, ja verrata näitä energian derivaattoja efektiiviseen Hamiltoniin. Oleellista tässä on, että aaltofunktiota ei ole optimoitu \mathbf{B}_0 :sta riippuvien termien läsnäollessa, vaan nämä termit muodostavat (24) mukaiset häiriöhamiltonit. Tämä on perusteltua, sillä magneettikentän ja magneettisten momenttien aiheuttamia ”häiriöitä” voidaan pitää pieninä.

3.6 Molekyylidynamiikan simulaatiot

Elektronirakennelaskujen lisäksi toinen tapa tutkia molekyylisysteemeitä on *molekyylidynamiikan simulointi*. MD-simulaatiot tulevat tärkeiksi, kun molekyyliin liikkeet toistensa suhteen (tai molekyyliin sisäinen liike, esim. konformaatiomuutokset) ovat tärkeitä tutkittavan ilmiön kannalta. Näin on esimerkiksi nestemäisiä systeemejä mallintaessa.

MD-simulaatioilla tutkitaan molekyyliin ja atomien välisiä vuorovaikutuksia. Empiirisesti parametrisoitujen voimakenttien tapauksessa molekyyliin varsinaisesta elektronirakenteesta luovutaan, ja molekyyliin liikeradat ratkaistaan efektiivisten voimien pohjalta

numeerisesti Newtonin liikeyhtälöistä. On olemassa myös ns. first principles -MD:tä, jossa systeemille lasketaan kussakin systeemin atomien hetkellisessä paikassa approksimaatiivinen elektroniverho, josta puolestaan ytimiin vaikuttavat voimat. MD-simulaatioita sovelletaan paljon laskennallisen fysiikan ja kemian ongelmia ratkaistaessa.

Simulaatiot vaativat aina jonkinlaisen lähtöasetelman, eli reunaehdot. Nämä voivat olla esimerkiksi vakiona pidettävä paine P ja/tai lämpötila T , ja systeemin koko. Molekyyliemäntiikassa optimoidaan systeemin geometria. Tällöin käytetyn voimakentän mukainen energia minimoidaan, jolloin tuloksena saadaan systeemin minimienergian arvo ja sen mukaiset atomiset koordinaatit. Molekyyliidynamiikassa tuotetaan aikajärjestetty sarja rakenteita, jotka ovat mahdollisia käytetyillä reunaehdoilla. Ei siis minimoida voimakentän antamaa energiaa, vaan liikutetaan atomeja voimien mukaisesti, jolloin tuloksena saadaan atomien radat.

MD-simulaation alussa molekyylielle annetaan tietyt alkuarvot, esimerkiksi nopeudet, ja pienten aika-askeleiden välein (luokkaa 10^{-14} s tai lyhyempiä) atomien uudet sijainnit lasketaan. Iteraatioita jatketaan simulaatioajassa niin kauan kuin systeemin halutaan kehittyvän. Kun haluttu simulaatioaika on saavutettu, systeemille voidaan aikakeskiarvojen ja aikakorrelaatiofunktioiden perusteella laskea eri suureita.

MD-simulaatioiden lisäksi molekyyliysteemien liikkeisiin liittyviä ongelmia ratkaistaessa on usein käytössä myös *Monte Carlo* -menetelmä. Se sopii tehokkaaseen konformaatioiden tutkimiseen silloin, kun ei olla kiinnostuneita eksplisiittisesti aikariippuvista asioista, vaan vain näistä mahdollisista konformaatioista ja molekyyliominaisuuksien keskiarvoista niiden yli.

4 Laskennalliset tutkimukset

Laskennallisteoreettisten tutkimusten avulla pyritään mallintamaan ja ymmärtämään tutkittavaa systeemiä, usein ilman kokeellista tietoa. Laskennalliset tutkimukset antavat kvalitatiivista ja kvantitatiivista tietoa systeemistä, ja luovat usein lähtökohdan kokeellisille tutkimuksille. Laskennallinen tutkimus tukee kokeellista tutkimusta, ja päinvastoin. Onnistunut kokeellinen tulos vahvistaa teoreettista mallia, jonka pohjalta voidaan laskennallisesti tuottaa ennusteita uusia, tarkempia kokeita varten.

Tutkimuksia, joissa ksenonbiosensorille on laskennallisesti määritetty NMR-parametreja ei ole monta, koska aihe on melko uusi [3, 16, 18, 33–37]. Ksenonbiosensorisovelluksessa lopullinen liuotinympäristö on biokemiallinen tai muuten kemiallisesti aktiivinen. Tämän takia kokeet tulee lopulta suorittaa elävässä kudoksessa (*in vivo*) tai muuten sovelluksen kannalta realistisessa ympäristössä. Ennen kuin tällaisia kokeita voidaan toteuttaa, täytyy teoreettinen (*in silico*) ja laboratorio-olosuhteissa saavutettu kokeellinen (*in vitro*) ymmärrys olla hyvällä pohjalla. Tämän takia laskennalliset tutkimukset ovat erityisen tärkeitä, koska ne antavat tietoa systeemin käyttäytymisestä ilman varsinaisia kokeita.

4.1 Ksenonin elektroniverhon varjostus ja kemiallinen siirtymä

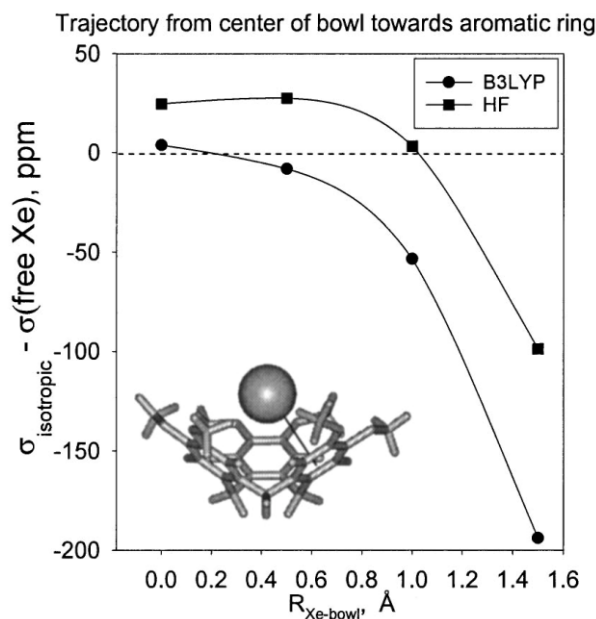
Ensimmäisessä ksenonbiosensoreita koskevassa laskennallisessa tutkimuksessa Sears ja Jameson [16] pyrkivät laskennallisesti selvittämään erityisesti kemiallisen siirtymän riippuvuutta häkin koosta, häkin atomien isotooppien vaihdosta ja lämpötilasta. Artikkelissa pyrittiin saamaan kvanttimekaaninen selitys ksenonin varjostukselle yksinkertaisissa

häikeissä, ja statistisen fysiikan keinoin selvittämään ksenonin mahdollisia konfiguraatioita häkin sisällä. Tuolloin (2003) ei vielä ollut mahdollista tutkia häkkiä, jossa on pitkä funktionaalinen ryhmä kiinni. Kuitenkin kokeellista dataa, johon nojata, oli tuolloin jo olemassa. Ksenonin varjostuksen laskemiseksi kryptofaani-A -häkin eri osissa käytettiin puolikas-ta häkkiä kerrallaan. Oletuksena oli, että puolihäkin kontribuutiot ksenonin varjostukseen voidaan lopulta summata yhteen. Kaikissa laskuissa sisällytettiin 1/3-häkin linkkeriryhmille saatu gauche-konformaatio (luku 4.3). Koko systeemille 1014 ja 240 kantafunktion välillä oli vain 0,01 ppm ero, joten he päättivät käyttää 240 kantafunktiota. Aiemmassa työssään [38], elektronikorrelaation approksimoinnista (DFT) ja relativistiikan puuttumisesta (HF) aiheutuvien virheiden takia, tutkijat saivat HF:n, DFT:n ja kokeellisten tulosten välille ksenonin varjostuksen arvoille tulokseksi $\sigma_{\text{exp}} \approx 1,16\sigma_{\text{HF}} \approx 0,85\sigma_{\text{DFT/B3LYP}}$. He päättivät käyttää DFT:tä pitäen mielessä, että arvot ovat hieman yliarvioituja.

Ksenonin varjostuksen arvoja vertailtiin DFT:llä ja HF:llä tuoden ksenonia kohti puolihäkin eri yksikköjä. Kuvassa 8 ksenonia on tuotu kohti puolihäkin aromaattista ren-gasta. Isotrooppisen varjostusvakion arvoa varten parametrisoitiin elektroniverholaskuja käyttäen ns. NMR-voimakenttä, eli yksittäisen häkin atomien kontribuutio ksenonin varjostusvakioon, ksenonin ja kyseessä olevan häkkiatomin etäisyyden funktiona. Näiden ns. Xe-site-funktioiden avulla saadaan ksenonille isotrooppinen varjostusvakion arvo $\sigma_{\text{ISO}}(\mathbf{r})$ mielivaltaisessa paikassa häkin sisällä. Kemiallisen siirtymän keskiarvoa ja sen riippuvuutta häkin koosta, isotooppien vaihdosta ja lämpötilasta selvitettiin Monte-Carlo -simulaatioilla. Suhteellinen kemiallinen siirtymä kryptofaani-A ja kryptofaani-E -häkkien välillä vastasi todella hyvin kokeita. Kun otetaan huomioon, että DFT yliarvioi tulokset, niin myös lasketut absoluuttiset kemiallisen siirtymän arvot vastasivat hyvin kokeita. Samojen site-funktioiden avulla ksenonin kemiallinen siirtymä pystyttiin laskemaan lämpötilan funktiona. Huomattiin, että kun lämpötila kasvaa, niin myös kemiallinen siirtymä kasvaa. Tämä johtuu ksenonin suuremmasta todennäköisyydestä olla kaviteetin seinän ja siten häkin atomien läheisyydessä. Tämä lämpötilariippuvuus näyttäisi olevan lineaarista. Laskujen avulla saatu kulmakerroin oli kuitenkin hieman pienempi kuin kokeellinen.

Jameson, Sears ja Murad [36] tutkivat häkkirakenteeseen suljetun ksenonin kemiallista siirtymää yhdessätoista eri liuoksessa. Tämä on ensimmäinen tutkimus, jossa liuoksen vaikutus otettiin huomioon. Menetelmät ksenonin varjostusta varten eri häkkien kaviteeteissa olivat samoja kuin artikkelissa [16] (Xe-site funktiot ja oletus, että puolihäkkien kontribuutiot ksenonin varjostukseen voidaan summata). Myös tässä eri konfiguraatioiden keskiarvoistus tehtiin MD-simulaatioiden avulla. Artikkelissa onnistuttiin laskennallisesti tuottamaan oikea käyttäytyminen ksenonin kemiallisen siirtymän lämpötilariippuvuudelle. Tutkijat ennustivat myös kemiallisen siirtymän eron mallinnetuissa liuottimissa alkaaneiden ja niiden perfluorattujen vastinten välillä. Käytetyt menetelmät tuottivat systemaattisia trendejä, jotka vastaavat kokeellisia tuloksia näissä eri liuoksissa. Tutkijat näyttivät, että korrelaatiot ksenonin kemiallisen siirtymän ja ksenonin sekä liuottimen välisen dispersio-energian (tai muun suureen, joka liittyy sähköiseen polarisaatioon tai dispersioenergiaan) välillä ovat harhaanjohtavia. Ksenonin varjostus ei siis olennaisesti johdu liuottimen aiheuttamista dispersiovoimista tai sähköisestä polarisaatiosta. Vesiliuoksessa lasketut tulokset ovat erinomaisessa sopusoinnussa kokeiden kanssa.

Artikkelissa [37] Dubost ja työtoverit tutkivat ksenonin kemiallista siirtymää H₂O₂-liuoksessa (vetyperoksidi) kvanttikemiallisin menetelmin. Työssä oltiin kiinnostuneita häkkirakenteen konformaation muutoksien vaikutuksesta ksenonin kemialliseen siirtymään.



Kuva 8: Ksenonin varjostuksen arvoja etäisyyden funktiona lähestyttäessä kryptofaani-A-puolihäkin aromaattista rengasta. Vertailussa DFT/B3LYP-funktionaali ja HF [16].

Tekijät halusivat valita reaktion, joka aiheuttaa kryptofaani-isännässä konformaation muutoksia pientä reaktanttia käyttämällä. Tästä syystä valittiin vetyperoksidi. Isäntärakenteena oli käytössä kryptofaani-111, koska sillä on suuri affiniteetti ksenonille, pienet muutoksen sen aromaattisissa renkaissa vaikuttavat suuresti ksenonin kemialliseen siirtymään ja pienimpänä kryptofaanina sen kvanttikemiallinen käsittely on suurempia häkkeitä suoraviivaisempaa. Häkin geometria optimoitiin DFT/B97-D -funktionaalilla, jonka dispersiotermi oli empiirisesti saatu. H, B, C, N, ja O -atomeille oli käytössä def2-TZVP-kantajoukko ja ksenonille relativistiikan sisältävä (small-core energy-consistent effective core potential) kantajoukko. Ksenonin ja häkin väliset vuorovaikutukset jaettiin komponentteihin (EDA = energy decomposition analysis). Tämä käsiteltiin toisen kertaluvun Møller-Plesset häiriöteorialla (MP2). Ksenonin GIAO:n mukainen varjostustensori laskettiin DFT/PBE0 -funktionaalilla ja STO-kantajoukolla. Relativistiikka huomioitiin ZORA -menetelmällä. Huomattiin, että ksenonin sitoutumisenergia häkkiin on $-9,4$ ja $-12,4$ kcal/mol⁻¹ välillä. Attraktiivisista vuorovaikutuksista dispersiotermin kontribuutio oli n. 60% ja elektrostaattisen termin kontribuutio n. 25%. Nämä kaksi termiä siis dominoivat isäntä-vierasvuorovaikutuksia. Fenyylirenkaan ja ksenonin välisen vuorovaikutuksen huomattiin olevan hallitseva. Kryptofaani siis pyrkii kemiallisen ympäristön muutoksiin adaptoituessaan minimoimaan tämän vuorovaikutuksen. Saadut kemiallisen siirtymän arvot kryptofaanin eri konformaatioille olivat todella hyvässä sopuussuhteessa kokeellisten tulosten kanssa. Kemiallista siirtymää tutkittiin enemmän jakamalla varjostustensori paramagneettiseen ja diamagneettiseen osaan. Huomattiin, että varjostustensorin vaihtelu johtuu lähes täysin paramagneettisesta kontribuutiosta. Ensimmäistä kertaa tutkimuksessa pystyttiin identifioimaan ksenonin ja isännän välisen vuorovaikutuksen kaikki komponentit.

4.2 Ksenonin affiniteetti

Demissie, Ruud ja Hansen [34] tutkivat kymmenen tunnetun ja muutaman uuden kryptofaanin heikkoja vuorovaikutuksia ja niihin liittyviä energioita ksenonin kanssa, sekä ksenonin affiniteettia näille häkeille. Tarkoituksena oli vertailla useita eri DFT-funktionaaleja näitä vuorovaikutuksia kuvatessa. Vertailuarvona olivat spin-komponenttiskaalatusta toisen kertaluvun Møller-Plesset häiriöteoriasta (SCS-MP2) saadut tulokset. Tutkimuksessa pyrittiin myös ennustamaan joitain potentiaalisia isäntärakenteita ksenonille ja tutkimaan isännän rakenteen vaikutusta ksenonin kemialliseen siirtymään. Artikkelissa esitettiin eri menetelmien vahvuuksia ja heikkouksia. Tulokset osoittivat, kuinka tärkeitä DFT-funktionaalien dispersiokorjaukset ovat näitä vuorovaikutusenergioita tutkittaessa. Puhtaalla DFT/B3LYP:llä saatuja tuloksia tulisi artikkelin mukaan käyttää varoen, kun kyseessä on molekyyliysteemi, jossa vuorovaikutukset ovat heikkoja. Tutkijat suosittelivat M06-L ja ω B97X-D -funktionaaleja kyseisiä systeemejä tutkiessa.

Gao ja työtoverit [35] tutkivat ksenonin affiniteettia kuudessa eri veteen liukenevassa kryptofaanissa. Tähän käytettiin molekyyliidynamiikan simulaatioita ja vapaan energian häiriöteoriaa (free energy perturbation theory). Simulaatiot antoivat tietoa affiniteetin riippuvuudesta häkin konformaation muutoksista, liuottimen vaikutuksesta ja liuenneiden vastaionien roolista, jotka voivat sitoutua joihinkin hähkeihin kelaatiolla. Tutkimuksessa huomattiin, että kaviteettiin ajautuneilla ylimääräisillä vesimolekyyleillä on vaikutusta ksenonin sitoutumisvakioon. Kaviteetissa olevien vesimolekyylien määrällä on myös suuri vaikutus ksenonin sitoutumiseen liittyvään vapaaseen energiaan. MD-simulaatioissa vakioina pidettiin hiukkasluku, paine ja lämpötila (*NPT*). Vapaan energian lisäksi simulaatioiden avulla saatiin tietoa kryptofaanin konformaatioista ja sen lähiympäristöstä. Vaikka kryptofaanin kaviteetti on hydrofobinen, se pystyy sisältämään vesimolekyylejä. Ksenonin sitoutuessa noin 20 vesimolekyyleä vapautuu vapaan ksenonin välittömästä läheisyydestä, niin sanotusta ensimmäisestä liuotinkuoresta ($r < 5-6$ Å ksenonatomista), kauemmaksi liuottimeen. Sen lisäksi häkin sisällä olevat vesimolekyylit vapautuvat liuottimeen. Suurempi kryptofaani sisällyttää enemmän vesimolekyylejä, jotka ksenon sitoutuessaan vapauttaa. Liuoksessa vesimolekyylit usein jätetään huomioimatta, mutta tässä tutkimuksessa näytettiin, että vesimolekyyleillä on merkittävä rooli ksenonin affiniteetin kannalta. Ksenonin sitoutumiseen liittyvällä vapaalla energialla ja kaviteetin vesimolekyylien määrällä näyttäisi olevan lineaarinen riippuvuus. Vesimolekyylien määrän keskiarvo kaviteetissa oli eri kryptofaaneille: 0,50 TTEC:lle, 0,92 TAAC:lle, 1,01 TTPC:lle, 1,63 $m2n2$:lle, 2,23 $m2n3$:lle ja 2,73 $m3n3$:lle. Tämä järjestys oli myös laskevan ksenonin affiniteetin mukainen. Mitä suurempi kryptofaani on, sitä enemmän vesimolekyylejä ksenonilla on syrjäytettävänä sen sitoutuessa. Saadut tulokset olivat hyvässä sopusoinnussa kokeista saatujen tuloksien kanssa. Tässä esitetyjä menetelmiä voisi siis käyttää sopivaa kryptofaania etsiessä.

4.3 Häkin geometria

Kryptofaani-A:n CTV-kulhoja yhdistävien linkkeriyksiköiden konformaatioille pyrittiin löytämään optimigeometria artikkelissa [16]. Lähtökohtana käytettiin kokeista saatua kiderakennetta. Vain 1/3 häkistä pystyttiin tuolloin optimoimaan kerrallaan. Tätä varten käytettiin DFT/B3LYP -funktionaalia. 1/3-häkin linkkeriyksiköt päätyvät *gauche*-konformaatioon. Se säilyttää tämän konformaation, kun käytettyä STO-3G -kantajoukkoa

kasvatetaan niin suureksi, että se sopii varjostuslaskuihin. Saatu tulos on täydessä sopuinnussa kokeiden kanssa. Samalla menetelmällä häkin osat tuotiin yhteen, ja OCH_3 -ryhmille etsittiin optimiasennot. Saatu häkin geometria kuuluu symmetriaryhmään D_3 . Samat laskut tehtiin myös kryptofaani-E:lle. Huomattiin, että kryptofaani-E on isompi kuin kryptofaani-A. Optimigeometriaa pyrittiin samassa artikkelissa selvittämään myös molekyyldynamiikan simulaatioilla. Liuottimena käytettiin $120 (\text{CHCl}_2)_2$:sta 20970 \AA^3 laatikossa. Viisi luotimolekyyliä korvattiin kryptofaani-A:lla (vieraana CHCl_3), jonka jälkeen nesteen annettiin relaksoitua. Simulaatioita tehtiin 100 K, 200 K ja 300 K lämpötiloissa 2 fs aika-askeleilla antaen systeemin kehittyä 5-10 ps:n ajan. Sama simulaatio tehtiin myös kryptofaani-E:lle. Saatu optimigeometria oli hyvässä sopuinnussa kvanttimekaanisten laskujen kanssa.

4.4 Häkkiin lisättyjen yksiköiden vaikutus

Bagno ja Saielli [18] tutkivat vesiliukoisuutta edistävien metallisten MCp (M on Ru, Fe tai Os) -ligandien vaikutusta yhteen suurimman affiniteetin omaavaan kryptofaanipohjaiseen isäntärakenteeseen [39, 40]. Mielenkiintoista tässä kompleksissa on se, että yksiköt pienentävät ksenonin varjostusta huomattavasti. Klassisesti ajateltuna positiivisesti varatut yksiköt viittaisivat varjostuksen pienenemiseen, koska ne vetävät ksenonilta elektroneja puoleensa. Tiedetään kuitenkin, että raskaiden ydinten kemialliset siirtymät voivat käyttäytyä hyvin epäintuitiivisesti. Relativistisilla ilmiöillä, kuten spin-ratakytkennällä on suuri vaikutus. MCp-yksikköjen vaikutusta ksenonin kemialliseen siirtymään tutkittiin ZORA-DFT:llä. Huomattiin, että ksenonin kemiallisen siirtymän suhteellinen vaihtelu $\Delta\delta$ metalloidun ja metalloimattoman kryptofaanin välillä kasvaa, kun relativistiikka otetaan huomioon. Relativistisen efektin lisäksi metallin valinta on merkittävä. Metallin vaikutus $\Delta\delta$:aan on kaksiosainen: täysin relativistinen kontribuutio ja klassinen elektroninen (induktiivinen) kontribuutio liittyen metallin varaukseen. Huomattiin, että MCp-yksikköjen vaikutus ei synny niiden nettovarauksen takia, vaan se tapahtuu kvanttimekaanisten orbitaalivuorovaikutusten kautta. Artikkelissa näytettiin, että relativistisia ZORA DFT -menetelmiä voidaan hyvin soveltaa tutkittaessa ei-kovalenttisten vuorovaikutusten vaikutusta ksenonin kemialliseen siirtymään.

Kryptofaanihäkin vetyjen korvaamista deuteriumilla kokeiltiin myös artikkelissa [16]. Molekyyldynamiikan simulaatioiden avulla huomattiin, että kemiallinen siirtymä kokee muutoksia, koska vetyjen dynamiikka muuttuu. Raskaampi deuterium pyyhkäisee värähdellessään pienemmän alueen, jolloin ksenon pääsee lähemmäs häkkiatomeja. Nämä simulaatiot olivat kuitenkin täysin klassisia. Isotoopin vaihdon vaikutusta matkittiin yksinkertaisesti käyttämällä Monte Carlo -simulaatioissa $0,07 \text{ \AA}$ lyhyempää keskimääräistä etäisyyttä ksenonin ja deuteriumin välillä verrattuna ksenonin ja vedyn väliseen keskimääräiseen etäisyyteen.

4.5 Kemiallinen ympäristö

Artikkelissa [18] tutkittiin relativistisella ZORA-DFT:llä liuoksen vaikutusta häkkiin sitoutuneiden MCp-yksikköjen määrää muuttamalla. Kun yksiköitä on yksi tai kolme, niin $\Delta\delta$ laskee ksenonille. Kun taas yksikköjä on kuusi, $\Delta\delta$ nousee. Tätä tutkittiin tarkastelemalla yksikköjen vaikutusta häkin geometriaan. Yhden tai kolmen yksikön tapauksessa

häkin geometria ei juurikaan muutu ($\Delta\delta$:n ero tulee elektronirakenteen muutoksista). Kaasufaasissa kuuden yksikön tapauksessa metallien repulsion takia geometria muuttuu kuitenkin merkittävästi (kaviteetti kasvaa). Kun liuoksen vaikutus otetaan huomioon, häkin kaviteetti näyttäisi kuitenkin kutistuvan. Tutkimuksessa siis osoitetaan, että liuoksen huomioon ottaminen voi johtaa täysin eri tuloksiin kuin kaasufaasissa lasketut tulokset.

Myös artikkelissa [34] tutkittiin liuottimen vaikutusta ksenonin kemialliseen siirtymään kvanttikemiallisella niin sanotulla kontinuumiliuosmallilla. He vertailivat kymmentä eri kryptofaanihäkin perusrakennetta muuttamalla sekä CTV-kulhojen välisten sidosten, että niiden reunoille sitoutuneiden yksiköiden lukumäärää ja laatua. Sidokset olivat joko alkyylitai alkyylidioksisidoksia, ja reunoille sitoutuneet yksiköt olivat metoksi- tai metyyliiryhmiä. Huomattiin, että esimerkiksi kryptofaani-A:lla, liuottimen (H_2O) vaikutus kemialliseen siirtymään on jopa 37%. Toinen merkittävä huomio oli, että vaikka yleensä ksenonin kemiallisen siirtymän, yleisimmissä häkkirakenteissa, ajatellaan huoneenlämmössä olevan n. 30-80 ppm, niin esimerkiksi rakenteissa, joissa sidokset koostuvat pelkästään hiiliatomeista, on kemiallinen siirtymä jopa 189 ppm. Käytössä heillä oli B3LYP funktionaali, SO-ZORA approksimaatio ja TZ2P kantajoukko. Tulosten vahvistamiseksi tutkijat laskevat kemiallisen siirtymän vety-ytimelle metaanissa, joka on kryptofaani-111:ssä. Tuloksena oli -5,2 ppm ja kokeista saatu tulos on -5,3 ppm, eli lasketut tulokset edustavat hyvin ksenonin kemiallista siirtymää eri häkkirakenteissa.

Synteettiset menetelmät, joita käytetään kryptofaanien valmistamiseen, tuottavat usein raseemisen, molempia enantiomeerejä (R ja L) sisältävän seoksen. Molekyylit, jotka ovat toistensa enantiomeerejä, ovat toistensa peilikuvia. Ruiz ja työtoverit [33] tutkivat kiraalisten substituenttien vaikutusta ksenonin kemialliseen siirtymään kryptofaani-A-häkissä. Akiraalisen substituentin ollessa kiinnityneenä häkkiin ksenonin NMR-signaali on yksi isotrooppinen piikki, mutta kiraalisen ryhmän tapauksessa se jakautuu yhdeksi tai useammaksi dupletiksi, riippuen substituentin kiraalisten keskusten lukumäärästä. Tutkijat laskevat vasenkätiselle (L) kryptofaani-A:lle kemiallisen siirtymän arvoja, kun siihen vaikutti joko oikea- tai vasenkätinen kiraalinen potentiaali, joka edusti häkissä kiinni olevaa oikea- tai vasenkätistä (r tai l) substituenttia. Kiraalisessa potentiaalissa otettiin huomioon vain substituentin Löwdinin mukainen varausjakauma, eikä elektroneja käsitelty eksplisiittisesti. Varausjakauman geometria oli siis oleellisessa roolissa. Lr ja Ll diastereomeeriparien aiheuttamien varjostusten selville saaminen mahdollistaisi kemiallisten siirtymien arvojen suhteellisen järjestyksen ennustamista liuoksessa, jossa on sekä Rl että Ll diastereomeerejä. Koska substituentilla itsellään on kaksi kiraalista keskusta, määrittivät tekijät lopulta Lll, Lrl, Rll, ja Lrr -systemien varjostusten arvoja, jotka taas sallivat kemiallisen siirtymän suhteellisen järjestyksen ennustamista liuoksessa, jossa on Llr, Rlr, Lll ja Rll diastereomeerejä. Näiden laskennallisten menetelmien avulla Xe NMR-spektrin piikit voitaisiin helposti nimetä käymättä läpi vaikeaa optisesti puhtaiden kryptofaanien synteesiä. Tutkimuksessa oli käytössä DFT/B3LYP-funktionaali ja MD-simulaatiot ksenonin kemialliselle siirtymälle häkissä. Ksenonin NMR-spektrin piikkien suhteellinen järjestys onnistuttiin ennustamaan liuoksissa, joissa on näitä eri diastereomeereja. Eri kiraaliset potentiaalit vaikuttivat ksenonin varjostukseen häkissä. Tutkimuksessa huomattiin, että suurempi kemiallinen siirtymä vastaa samankätisiä diastereomeereja, ja pienempi kemiallinen siirtymä erikätisiä diastereomeereja. Tutkijat huomasivat myös, että näissä systeemeissä häkin keskustan ja substituentin kiraalisten keskusten välinen etäisyys ei ole merkityksellinen. Saadut tulokset vastaavat hyvin kokeissa saatuja tuloksia.

Léonce ja työtoverit tutkivat artikkelissa [3] ksenonin kemiallisen siirtymän riippuvuutta liuoksen pH:sta. Kahden lähes samanlaisen kryptofaanin kemiallisen siirtymän pH-riippuvuus oli päinvastaista. Syytä tähän etsittiin tutkimalla sähkökentän gradienttia ksenonytimen kohdalla kun ksenon on häkissä. Tätä varten käytettiin relativistisia DFT-laskuja. Häkin geometria optimoitiin DFT/B97-D -funktionaalilla, jonka dispersio-termi oli empiirisesti saatu. Vuorovaikutukset jaettiin komponentteihin EDA:n avulla ja laskut tehtiin ZORA-DFT/PBE0-D3 -funktionaalilla käyttäen täysin relativistista TZ2P-kantajoukkoa. Huomattiin, että suurin kompleksia stabilisoiva vuorovaikutus on fenyylirenkaan ja ksenonin välinen vuorovaikutus (kuten myös artikkelissa [37]). Suuri kontribuutio oli myös elektrostaattisella vuorovaikutuksella ja Paulin repulsiolla. Lasketut magneettiset parametrit olivat sopusoinnussa kokeiden kanssa. Tutkimuksessa saatiin hyvä ymmärrys siitä, miksi nämä lähes samanlaiset kryptofaanit käyttäytyvät päinvastaisesti.

5 Yhteenveto

Ksenonbiosensorien laskennallinen tutkimus on vielä melko varhaisessa vaiheessa. Tutkimuksia on vain vähän, ja ne keskittyvät lähinnä ksenon-isäntäkompleksien ominaisuuksiin, liuotinympäristön vaikutukseen ja ksenonin varjostukseen sekä kemialliseen siirtymään eri tilanteissa. Varhaisimman [16] ja uusimman [34] tutkimuksen välillä on n. 15 vuotta, jonka aikana menetelmät ja laskennalliset rajoitukset ovat muuttuneet paljon, joten tutkimusten vertailu voi olla vaikeaa. Esimerkiksi artikkelissa [34] tuodaan esille DFT/B3LYP-funktionaalin heikkouksia ja korostetaan dispersiokorjausten merkitystä DFT-laskuissa vierasmolekyylin tai -atomien affiniteetille. Näihin ei varhaisemmissa tutkimuksissa oteta kantaa. Selkeitä yhteneväisyyksiä laskennallisesti löydettyillä ominaisuuksilla kuitenkin on.

Pieni kaviteetti herättää pienemmän varjostuksen ksenonille. Tämä johtuu siitä, että ksenon on lähempänä häkin atomeja. Myös isotooppivalinnoilla ja häkkiin funktionalisoiduilla ryhmillä on vaikutusta kaviteetin kokoon ja täten varjostuksen arvoihin. Etenkin ryhmien vaikutus kaviteetin kokoon on oleellinen. Lämpötilariippuvuus on lineaarista. Kun lämpötila kasvaa, ksenonin todennäköisyys olla lähempänä häkkiatomeja kasvaa ja ksenonin elektroniverhon varjostus pienenee, jolloin taas kemiallinen siirtymä kasvaa. Häkin optimigeometriaa etsiessä röntgenkristallografiasta saatu kiderakenne on yleisesti käytetty lähtökohta. Raskaiden ytimien tapauksessa relativistiikan huomioon ottaminen voi johtaa täysin eri tuloksiin kuin epärelativistinen tarkastelu. Molekyylidynamiikan simulaatiot sopivat parhaiten keskimääräisten suureiden tutkimiseen, esimerkiksi ksenonin kemiallisen siirtymän arvoihin häkin eri osissa. Liuoksen huomioon ottaminen on hyvin merkittävää. Nestefaasissa lasketut tulokset voivat poiketa täysin kaasufaasissa lasketuista tuloksista.

Viitteet

- [1] L Schröder. “Xenon for NMR biosensing - Inert But Alert”. *Phys. Med.* 29 (2013), s. 3–16.
- [2] H Desvaux, P Berthault, G Huber. “Biosensing using laser-polarized xenon NMR/MRI”. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 55 (2009), s. 35–60.
- [3] D Pitrat, JC Mulatier, T Brotin, P Berthault, E Léonce, JP Dognon. “Accurate pH Sensing using Hyperpolarized Xe-129 NMR Spectroscopy”. *Chem. Eur. J.* 24 (2018), s. 6534–6537.
- [4] L Chavez, EJ Ruiz, T Wu, T Brotin, TJ Lowery, S Garcia et. al. “Optimization of xenon biosensors for detection of protein interactions”. *Chem. Bio. Chem.* 7 (2006), s. 65–73.
- [5] M Packard, F Bloch, WW Hansen. “Nuclear Induction”. *Phys. Rev.* 69 (1946), s. 127.
- [6] HC Torrey, RV Pound, EM Purcell. “Resonance absorption by nuclear moments in a solid.” *Phys. Rev.* 69 (1946), s. 37–38.
- [7] *The Nobel Prize in Physics 1952*. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1952/summary/>.
- [8] PC Lauterbur. “Image Formation by Induced Local Interactions: Examples of Employing Nuclear Magnetic Resonance”. *Nature* 242 (1973), s. 190–191.
- [9] PG Mansfield. “Diffraction and microscopy in solids and liquids by NMR”. *Phys. Rev. B* 12 (1975), s. 431–432.
- [10] V-V Telkki. “Luentomoniste: Spektroskooppiset menetelmät, NMR-spektroskopia”. Oulun yliopisto (2018).
- [11] JC Facelli. “Chemical shift tensors: Theory and application to molecular structural problems”. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 58 (2012), s. 176–201.
- [12] RW Schurko, CM Widdifield. “Understanding chemical shielding tensors using group theory, MO analysis, and modern density-functional theory”. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* 34A (2009), s. 91–123.
- [13] W Happer, TG Walker. “Spin-exchange optical pumping of noble-gas nuclei”. *Rev. Mod. Phys.* 69 (1997), s. 629–642.
- [14] C Hilty, DE Wemmer, A Pines, L Schröder, TJ Lowery. “Molecular imaging using a targeted magnetic resonance hyperpolarized biosensor”. *Science* 314 (2006), s. 446–449.
- [15] J Rebek Jr, S Meeozzi. “The 55% solution: a formula for molecular recognition in the liquid state”. *Chem. Eur. J.* 4 (1998), s. 1016–1022.
- [16] CJ Jameson, DN Sears. “Theoretical calculations of the Xe chemical shifts in cryptophane cages”. *J. Chem. Phys.* 119 (2003), 12231–12244.
- [17] A Collet, J Gabard. “Synthesis of a (D₃)-bis(cyclotrivenatrylenyl) macrocage by stereospecific replication of a (C₃)-subunit”. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 21 (1981), s. 1137–1139.

- [18] G Saielli, A Bagno. “Understanding the Extraordinary Deshielding of ^{129}Xe in a Permetallated Cryptophane by Relativistic DFT”. *Chem. Eur. J.* 18 (2012), 7341–7345.
- [19] JP Dutasta, T Brotin. “Xe@cryptophane complexes with C_2 symmetry: synthesis, investigations by ^{129}Xe NMR of the consequences of the size of the host cavity for xenon encapsulation”. *Eur. J. Org. Chem.* 973 (2003), s. 973–984.
- [20] D Wemmer, A Pines, J Frechet, J Mynar, T Lowery. “Xenon biosensor amplification via dendrimer-cage supramolecular constructs”. *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006), s. 6334–6335.
- [21] L Isaacs, DE Wemmer, A Pines, AE Truxal, LP Cao. “Directly Functionalized Cucurbit[7]uril as a Biosensor for the Selective Detection of Protein Interactions by ^{129}Xe hyperCEST NMR”. *Chem. Eur. J.* 25 (2019), s. 6108–6112.
- [22] J Roukala, J Zhu, C Giri, K Rissanen, P Lantto, VV Telkki. “Encapsulation of Xenon by a Self-Assembled Fe_4L_6 Metallosupramolecular Cage”. *J. Am. Chem. Soc.* 137 (2015), s. 2464–2467.
- [23] S Xu, E Harel, L Schröder. “Novel detection schemes of nuclear magnetic resonance imaging: application from analytical chemistry to molecular sensors”. *Annu. Rev. Anal. Chem.* 1 (2008), s. 133–163.
- [24] RS Balaban, KM Ward, AH Aletras. “A new class of contrast agents for MRI based on proton chemical exchange dependent saturation transfer (CEST)”. *J. Magn. Reson.* 143 (2000), s. 79–87.
- [25] *HYPER-CEST MRI Breaks New Ground in Molecular Imaging*. URL: <https://www2.lbl.gov/Science-Articles/Archive/MSD-HYPER-CEST.html>.
- [26] Jani Tuorila. “Luentomoniste: Kvanttimekaniikka 1”. Oulun yliopisto (2017).
- [27] RS Friedman, PW Atkins. “Molecular Quantum Mechanics, 5th edition”. *Oxford University Press* (2011).
- [28] W Kohn, P Hohenberg. “Inhomogeneous Electron Gas”. *Phys. Rev.* B136 (1964), s. 864–871.
- [29] LJ Sham, W Kohn. “Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects”. *Phys. Rev.* A140 (1965), s. 1133–1138.
- [30] AD Becke. “Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange”. *J. Chem. Phys.* (1993), s. 5648–5652.
- [31] RG Parr, C Lee, W Yang. “Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density”. *Phys. Rev.* B37 (1988), s. 785–789.
- [32] VG Malkin, M Kaupp, M Bühl (toimittajat). “Calculation of NMR and EPR Parameters: Theory and Applications”. *WILEY-VCH* (2004).
- [33] A Pines, CJ Jameson, EJ Ruiz, DN Sears. “Diastereomeric Xe Chemical Shifts in Tethered Cryptophane Cages”. *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006), s. 16980–16988.
- [34] JH Hansen, TB Demissie, K Ruud. “Cryptophanes for Methane and Xenon Encapsulation: A Comparative Density Functional Theory Study of Binding Properties and NMR Chemical Shifts”. *J. Phys. Chem.* 121 (2017), s. 9669–9677.

-
- [35] OS Lee, IJ Dmochowski, JG Saven, L Gao, W Liu. “Xe affinities of water-soluble cryptophanes and the role of confined water”. *Chem. Sci.* 6 (2015), s. 7238–7248.
- [36] S Murad, CJ Jameson, DN Sears. “Molecular dynamics averaging of Xe chemical shifts in liquids”. *J. Chem. Phys.* 121 (2004), s. 9581–9591.
- [37] B Rousseau, G Milanole, C Dugave, Y Boulard, E Dubost, JP Dognon et. al. “Understanding a Host–Guest Model System through ^{129}Xe NMR Spectroscopic Experiments and Theoretical Studies”. *Angew. Chem. Int. Ed.* 53 (2014), s. 9837–9840.
- [38] D Stueber, CJ Jameson. “The chemical shifts of Xe in the cages of clathrate hydrate Structures I and II”. *J. Chem. Phys.* 120 (2003), s. 1560–1571.
- [39] KT Holman, HA Fogarty, T Brotin, J Dutasta, RM Fairchild, AI Joseph et. al. “A Water-Soluble Xe@cryptophane-111 Complex Exhibits Very High Thermodynamic Stability and a Peculiar ^{129}Xe NMR Chemical Shift”. *J. Am. Chem. Soc.* 132 (2010), s. 15505–15507.
- [40] T Brotin, G Huber, H Desvaux, J Dutasta, HA Fogarty, P Berthault. “A Cryptophane Core Optimized for Xenon Encapsulation”. *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007), s. 10332–10333.