

Hochfeld-EPR an
Elektronentransferproteinen

Alexander Schnegg

DISSERTATION

Fachbereich Physik

FREIE UNIVERSITÄT BERLIN

2003

- 1. Gutachter Prof. Dr. Klaus Möbius
- 2. Gutachter Prof. Dr. Klaus D. Kramer

Tag der mündlichen Prüfung: 12. November 2003

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
2	Allgemeine Grundlagen	11
2.1	Das EPR-Spektrum	11
2.1.1	Elektron-Zeeman-Wechselwirkung und g-Tensor ($\hat{\mathbf{g}}$)	12
2.1.2	Hyperfineinwechselwirkung	13
2.1.3	Kern-Zeeman-Wechselwirkung	14
2.1.4	Linienverbreiterungsmechanismen	14
2.2	Auswertung der Spektren	17
2.2.1	Feld-und Phasenkalibrierung	17
2.2.2	Simulation der cw-Spektren	19
2.3	T_1 und T_2 im <i>fast motion limit</i>	20
2.4	Berechnung von T_2 durch stochastische Fluktuationen von $\hat{\mathbf{g}}$	22
2.5	EPR-Methoden	25
2.5.1	cw-EPR	25
2.5.2	Gepulste EPR	25
2.5.3	zwei-dimensionale gepulste EPR bei 95 GHz	25
2.5.4	Gepulstes 'Davies'-ENDOR bei 95 GHz/145 MHz	27
3	Das 360-GHz-Spektrometer	31
3.1	Der Aufbau des Spektrometers	32
3.2	Die Halbleiterquellen und -empfänger	34
3.3	Das gepulste 360-GHz-Orotron	39
3.3.1	Die Funktionsweise eines Orotrons	39
3.3.2	Technische Realisierung des gepulsten 360-GHz-Orotrons	41
3.3.3	Die EPR-Brücke im Pulsbetrieb	51
3.3.4	Erste Messungen im Pulsbetrieb	53
3.4	Phasenempfindliche EPR bei 360 GHz	55
3.4.1	Phase und Amplitude des Induktions-EPR-Signals	55

3.4.2	Das klassische EPR-Spektrometer mit Referenzarm	55
3.4.3	Phasenstabilität durch Phasenregelschleifen	56
3.4.4	Phasenempfindliche Detektion mit Hilfe stehender Wellen	57
3.5	Der 360-GHz-Sweeper	61
3.6	Der EPR/ENDOR-Resonator für Lichtbestrahlung	64
4	Bestimmung der g-Tensor-Hauptwerte des primären Donors in Mutanten von <i>Rb. sphaeroides</i>	69
4.1	$P_{865}^{\bullet+}$ in R26 und seinen Mutanten HL(M202) und HE(M202)	69
4.2	Probenpräparation	74
4.3	Ergebnisse	76
4.4	Diskussion	81
5	Bestimmung des g-Tensors des FADH[•]-Kofaktors der DNS-Photolyase	87
5.1	Der Flavinkofaktor der DNS-Photolyase	87
5.2	Probenpräparation	89
5.3	Ergebnisse und Diskussion	91
5.3.1	Bestimmung der g-Tensor-Hauptwerte	91
5.3.2	Orientierung des g-Tensors	93
6	Relaxationszeitmessungen an $Q_A^{\bullet-}$ und $Q_B^{\bullet-}$ in <i>Rb. sphaeroides</i> R26	99
6.1	Einleitung	100
6.2	Die Chinonakzeptoren Q_A und Q_B	101
6.3	Präparation von $Q_A^{\bullet-}$ und $Q_B^{\bullet-}$	104
6.4	Ergebnisse	107
6.5	Diskussion	114
7	Zusammenfassung und Ausblick	121

Lebenslauf

ALEXANDER SCHNEGG

7.4.1969	Geboren in Landshut, Niederbayern
1975 – 1980	Grundschule Frontenhausen
1980 – 1989	Gymnasium Vilsbiburg
24.6.1989	Abitur am Gymnasium Vilsbiburg
WS 89	Beginn des Physikstudiums an der Freien Universität Berlin
1.9.1990–31.8.1991	Freiwilliges soziales Jahr beim paritätischen Wohlfahrtsverband
6.4.1993	Vordiplom an der Freien Universität Berlin
WS 95/96 – SS 98	Studentische Hilfskraft am Fachbereich Physik im physikalischen Praktikum für Medizinstudenten
20.5.1996 – 31.12.1997	Laborpraktikum an der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt, Fachbereich Medizinische Messtechnik
16.9.1998	Diplom an der Freie Universität Berlin
1.12.1998	Beginn der Doktorarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Klaus Möbius
SS 99	Beginn des Aufbaustudiengangs medizinische Physik
15.12.2001	Abschluß des Aufbaustudiengangs medizinische Physik
seit 1.12.1998	Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe von Prof. Klaus Möbius

Danksagung

Für die Hilfe und die Diskussionen bei der Erstellung meiner Dissertation möchte ich mich herzlich bedanken bei:

- Prof. Klaus Möbius für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, seine Unterstützung und das rege Interesse an meiner Arbeit. Außerdem danke ich ihm für das ausgesprochen anregende und angenehme Arbeitsverhältnis.
- Michael Fuhs und Martin Fuchs, deren Hilfen und Ideen entscheidend waren für das Gelingen meiner Arbeit. Ich kann mir keine bessere Zusammenarbeit vorstellen. Michael Fuhs hat mir die Grundlagen der EPR vermittelt und mich an seinem universellen Wissen, das weit über die magnetische Resonanz hinausgeht, teilhaben lassen. Ich danke ihm auch für unsere physikalischen und nicht-physikalischen Reisen. In enger Zusammenarbeit mit Martin Fuchs sind die Messungen am 360-GHz-Spektrometer entstanden und ohne ihn wären sie nicht möglich gewesen. Ich danke ihm nicht nur für viele in dieser Arbeit enthaltenen Abbildungen, sondern auch für den Beistand und die Hilfe in allen Phasen der Arbeit.
- Prof. Thomas Prisner für die interessante Kooperation bei unserem Relaxationsprojekt und die weit über das übliche Maß einer Kooperation hinausgehende Unterstützung bei meiner Arbeit.
- Evgenia Kirilina, die mir durch geduldige Erklärungen die Tiefen der Relaxationstheorie erklärt hat.
- Yuri Grishin, dessen Art, technische Probleme zu lösen, mich stets aufs neue begeisterte. Seine Besuche in Berlin zählen zu den produktivsten Phasen meiner Arbeit.
- Anton Savitsky, der mir geholfen hat, den jeweils aktuellsten Stand der von ihm vorgenommen Weiterentwicklungen des W-Band-Spektrometers zu verfolgen und experimentell zu nutzen.
- meinen zeitweiligen Zimmerkollegen Patrick Müller, Julia Adolphs und Markus Galander, deren Gesellschaft mir stets eine Bereicherung war.
- Prof. Klaus Kramer für die konstruktive und interessierte Diskussionen während des Erstellens der Arbeit und die Übernahme des Zweitgutachtens.
- Martin Plato, Jens Törring, Helga Reeck für viele Gespräche auch nach ihrem Ausscheiden aus der Arbeitsgruppe.

- Prof. Robert Bittl und den Mitgliedern seiner neuen Arbeitsgruppe für die Diskussionen über neue EPR-Projekte.
- Stefan Weber und Prof. Wolfgang Lubitz für die Bereitstellung und Erklärung der Proteinproben.
- allen früheren Mitgliedern der Arbeitsgruppe Möbius.
- Andreas Spannbauer, Christina Kaindl, Martin Fuchs, Mathias Krzystyniak, Michael Fuhs und Thomas Prisner für das Korrekturlesen der Arbeit.