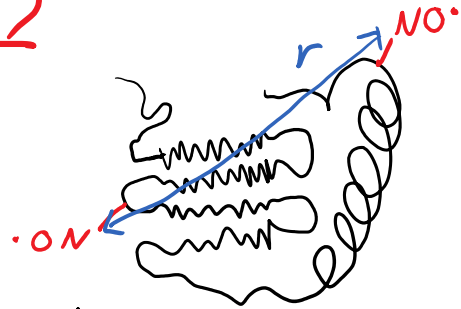


Abstandsmessungen in Proteinen

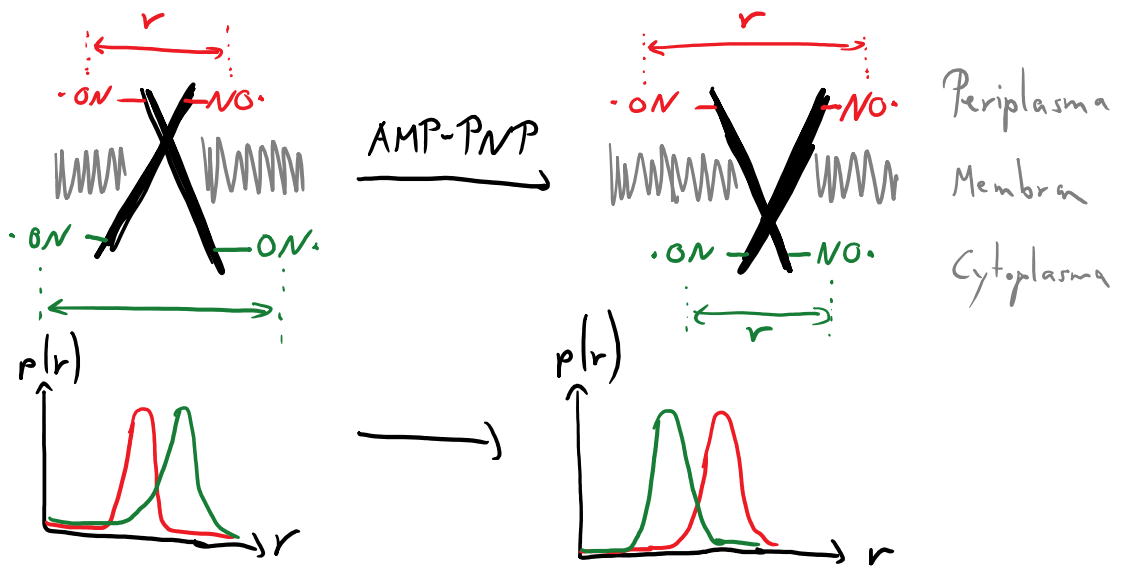
→ doppelte Spin-Markierung



z.B. Abstand zwischen Untereinheiten in biomolekularen Komplexen

strukturelle Änderungen durch Funktion

z.B. ABC-Transporter



Abstände zwischen 2 und ~8 nm

$$\Rightarrow d_{e-e} = \begin{cases} 6 \text{ MHz} \\ \vdots \\ 100 \text{ kHz} \end{cases}$$

Wie kann eine so kleine WW bei Linienbreiten von >10 MHz gemessen werden ???

Erinnerung:

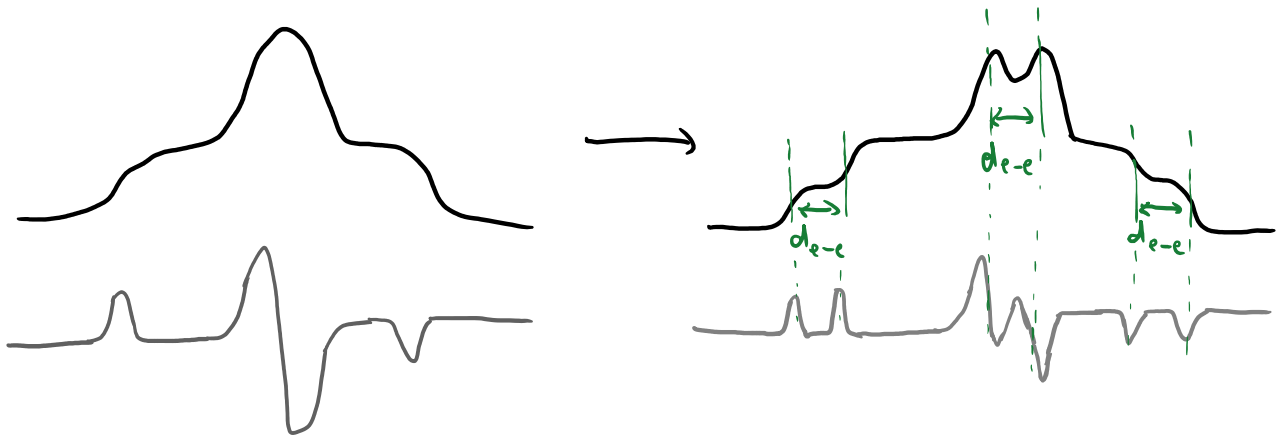
$$W_{e-e} = \frac{\mu_0 \mu_B^2 g_1 g_2}{4\pi h} \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{r^3}$$

$$d_{e-e} = \frac{\mu_0 \mu_B^2 g_1 g_2}{4\pi h r^3} \approx \frac{\mu_0 \mu_B^2 g_e^2}{4\pi h r^3} \approx \frac{52 \text{ MHz nm}^3}{r^3}$$

Dipolare Spektroskopie

Friday, January 26, 2018 5:10 PM

Für $r \leq 1 \text{ nm}$ kann e-e-Kopplung ($d_{e-e} \geq 52 \text{ MHz}$) meist direkt durch cw-EPR bestimmt werden (Simulation!)



Für $r > 2 \text{ nm}$ ($d_{e-e} < 6.5 \text{ MHz}$) muss "versteckte" Kopplung durch Pulsmethoden sichtbar gemacht werden!

Bekannteste Methode:

Pulsed Electron-Electron Double Resonance (PELDOR)

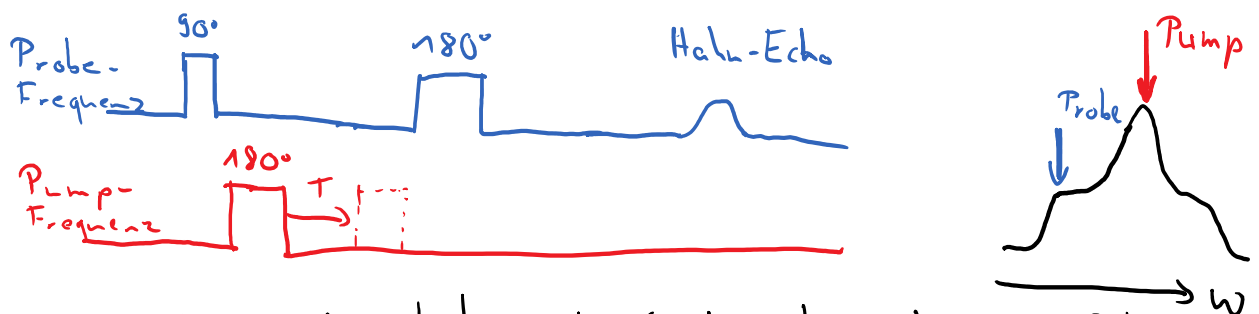
Milov, Ponomarev, Tsvetkov, Chem. Phys. Lett. 110, 67 (1984).

Double Electron-Electron Resonance (DEER)

Pannier, Veit, Godt, Jeschke und Spiess, J. Magn. Reson. 142, 331 (2000).

synonym!

2-Frequenz-Verfahren (3-Puls-PELDOR)



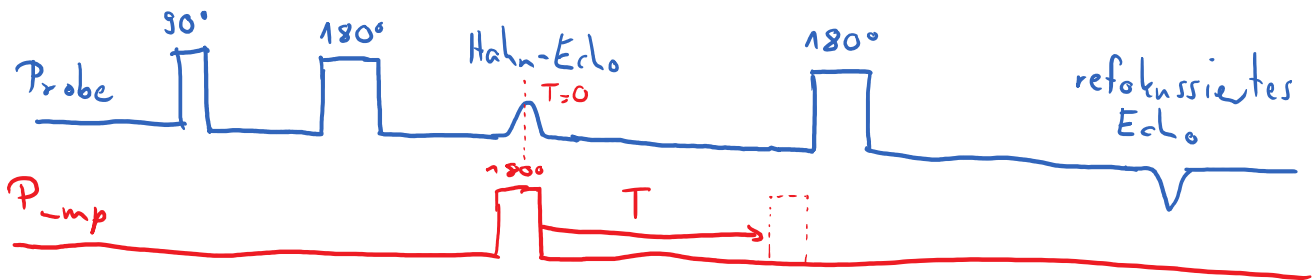
Problem: dipolare Modulation beginnt mit erstem 90° -Puls

Totzeit!

aber Pump-Puls darf nicht damit zeitlich überlappen!

verbesserte "Version": **4-Puls-PELDOR/DEER**

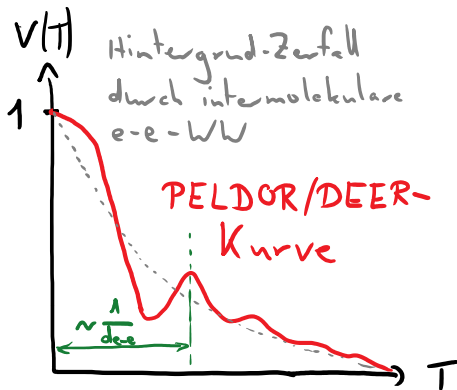
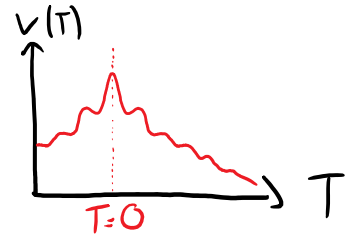
Pannier, Veit, Godt, Jeschke und Spiess, J. Magn. Reson. 142, 331 (2000).



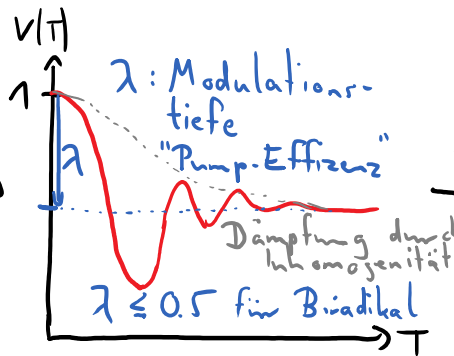
Totzeit bei $T=0$ wird vermieden, PELDOR-Kurve kann sogar schon vor primärem Hahn-Echo aufgenommen werden!

$$V_j(T) = \frac{I_j}{I_j(T=0)} = \left\{ 1 - \lambda_j [1 - \cos(\omega_{e-e,ij} T)] \right\}$$

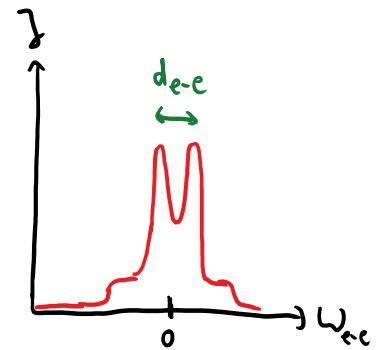
Überlagerung aller angeregter Spin-Paare j



Division durch Exp. Fkt.



FT

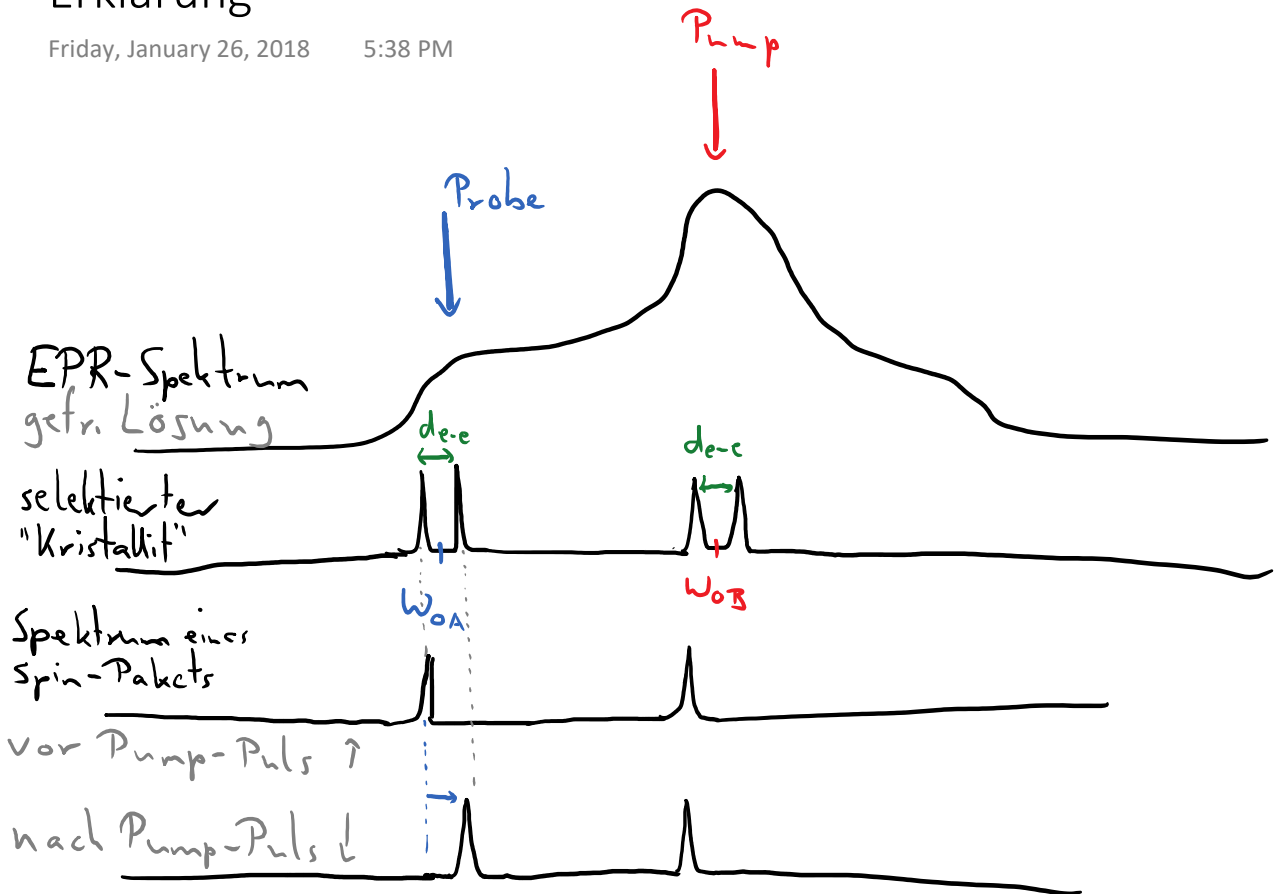


FT der PELDOR-Kurve $V(T)$ enthält gesamte Abstands-information; allerdings unterliegt diese immer einer Verteilung!
 ⇒ Modell-basierte Fits der PELDOR-Kurve (z.B. Gauß-Verteilung) oder Modell-freie Anpassung mit Tikhonov-Regularisierung

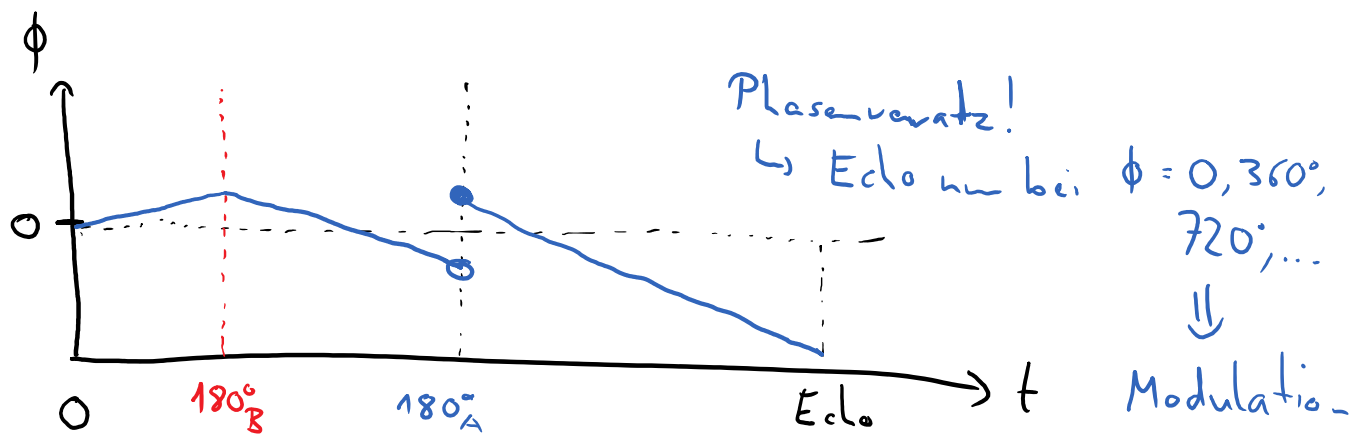
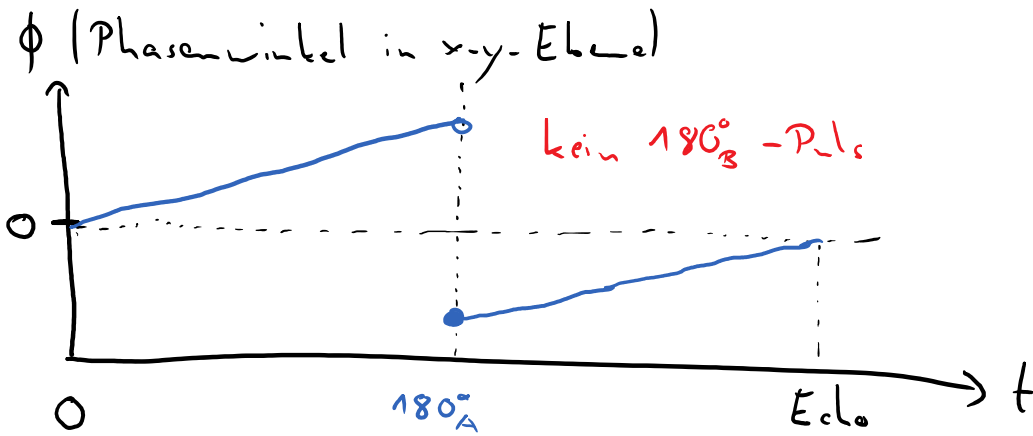


Erklärung

Friday, January 26, 2018 5:38 PM



→ Frequenz-Offset ändert sich durch Pump-Puls!



Vorteile von PELDOR/DEER:

- Große Variationsmöglichkeit von Parametern
z.B. Frequenzen, Anregungsbandbreiten, Flipwinkel
unabhängig wählbar für Pump- und Probe-Pulse
⇒ Orientierungsselektion möglich
gezielte Anregung von z.B. Nitroxid und Metallzentren

Limitationen von PELDOR/DEER:

- Spin-Pakete von A und B Spins müssen selektiv angeregt werden
⇒
 - selektive Pulse (geringe Empfindlichkeit)
 - spektrale Separation nötig (teilw. Überlapp erzeugt Artefakte)
 - separation darf nicht zu groß sein wegen Resonatorbandbreite
- Während der gesamten Pulssequenz darf kein spontaner Spin-Flip durch Relaxation stattfinden
⇒ keine schnell relaxierenden Spins (z.B. Metallzentren) untersuchbar
- Zweite Mikrowellen-Frequenz (Pulskanal) benötigt
⇒ Spezielle Instrumentierung, nicht an jedem Puls-EPR-Spektrometer durchführbar

Alternative Pulsed Dipolar Spectroscopy (PDS)

Monday, January 14, 2019 5:03 PM

RIDME (Relaxation-Induced Dipolar Modulation Enhancement)

Kulik, Dzuba, Grigoryev, Tsvetkov, Chem. Phys. Lett. 343, 315 (2001).

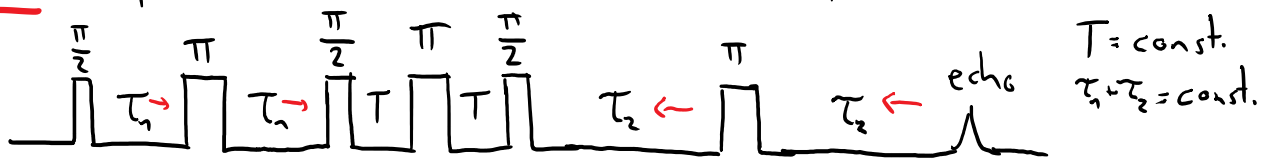


Prinzip ähnlich wie PELDOR, aber basiert auf spontanen Spin-Flips des gekoppelten Spins während T

- nur eine Mikrowellenfrequenz nötig
 - anwendbar bei beliebiger spektraler Separation
 - ein schnell und ein langsam relaxierender Spin (detektiert)
- Voraussetzung (z.B. Nitroxid - Cu^{2+} - Paar)

DQC (Double-Quantum Coherence)

Borbat und Freed, Chem. Phys. Lett. 313, 145 (1999).



Basiert auf Anregung und Entwicklung (unter d_{e-e}) von Doppelquanten-Kohärenzen

- nur eine Mikrowellenfrequenz nötig
- beide Spins (A+B) müssen durch gleichen Puls angeregt werden \rightarrow effizient nur bei schmalen EPR-Spektren (z.B. Trityl, nicht Nitroxid)
- ungewünschte Kohärenzen müssen durch Phasenzyklus gefiltert werden.

SIFTER (Single-Frequency Technique for Refocusing dipolar couplings)

Jeschke, Pannier, Godt, Spiess, Chem. Phys. Lett. 331, 243 (2000).



Ähnliches Prinzip wie DQC, aber...

- e-e-Kopplung wird refokussiert \rightarrow Empfindlichkeit