

## **5.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt B7**

### **5.1.1 Titel:**

Photoinduzierte Konformationsänderungen in Gasphasen-Biomolekülen

### **5.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:**

(Ultra-)Kurzzeitspektroskopie, photochemische Reaktionen, Biomoleküle

### **5.1.3 Leiter:**

#### **Gert von Helden, Ph.D.**

geb. 15.09.1965  
Dienst- Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft  
anschrift Faradayweg 4-6  
14195 Berlin  
Telefon 030/ 8413 5615  
FAX 030/ 8413 5603  
E-Mail helden@fhi-berlin.mpg.de

#### **Prof. Dr. Gerard Meijer**

geb. 06.04.1962  
Dienst- Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft  
anschrift Faradayweg 4-6  
14195 Berlin  
Telefon 030/ 8413 5602  
FAX 030/ 8413 5603  
E-Mail meijer@fhi-berlin.mpg.de

## **5.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts**

### **5.2.1 Bericht**

Ziel der Arbeiten in TP B7 ist es, Einsichten in die Struktur und Dynamik von komplexen Biomolekülen auf kurzen und sehr kurzen Zeitskalen zu erhalten. In biologischen Systemen wird diese Dynamik sowohl von intramolekularen Wechselwirkungen als auch von Wechselwirkungen mit der Umgebung, den intermolekularen Wechselwirkungen bestimmt. Diese Umgebung kann sowohl das Lösungsmittel (meist Wasser) als auch andere makromolekulare Systeme beinhalten. Eine Zielsetzung unserer Arbeiten ist es, die intra- und intermolekularen Wechselwirkungen explizit zu trennen und Einsichten in die individuellen Beiträge zu erlangen. Zu diesem Zweck wurden mit Relevanz zum SFB 450 in den letzten drei Jahren einige Systeme untersucht:

- Die Aminosäure Phenylalanin als freies Molekül in der Gasphase [HCB08]. Diese Arbeiten fanden im Rahmen einer Kooperation mit dem TP C1 (Manz/Gerber) des SFB 450 statt.
- Das Tripeptid Z-Aib-Pro-NHMe, sowohl als freies Molekül in der Gasphase als auch mikrosolvatisiert mit einem und zwei Methanol-Molekülen [ZBC10]. Diese Arbeiten fanden im Rahmen einer Kooperation mit dem TP C5 (Schütte/Schmidt/Lasser) des SFB 450 statt.
- Das zyklische Dekapeptid Gramacidin-S als doppelt protoniertes Ion frei in der Gasphase, sowie komplexiert mit zwei Kronenäther-Molekülen [KPO10].
- Verschiedene 26 Aminosäuren enthaltende Peptide (designed und synthetisiert in der AG Koksich, FU Berlin) und deren Komplexe in der Gasphase [KKB09].
- Das Molekül 3-Aminophenol, von welchem zwei Konformere durch einen neuartigen Masse/Dipolmoment-Filter räumlich voneinander getrennt werden konnten [FEH08].
- Die Aminosäure Tryptophan als freies Molekül in der Gasphase sowie mikrosolvatisiert mit 1-6 Wassermolekülen und 1-9 Methanolkölekülen [BCP07].

Um den oben genannten Zielen näherzukommen, ist es auch wichtig, die vorhandenen experimentellen Ansätze zu verbessern und zu erweitern. Aus diesem Grunde wurden zwei neuartige Apparaturen aufgebaut:

- Eine Apparatur in welcher masse/ladungsselektierte Ionen in flüssigen Heliumtröpfchen eingefangen werden können [KPM10]. Mit Hilfe dieses Gerätes können Teilchen wie z.B. Peptide oder Proteine mit gut definierter Zusammensetzung bei ultrakalten Temperaturen spektroskopisch untersucht werden. Da die Heliumumgebung dissipativ ist, kann bei den zu untersuchenden Teilchen auch die Dynamik von Strukturänderungsprozessen untersucht werden.
- Ein Gerät, in welchem verschiedene Konformere von geladenen (Bio-)Molekülen räumlich und zeitlich getrennt werden können. Ziel ist es, Konformere von Peptiden und Proteinen zu charakterisieren und laserinduzierte Konformationsänderungen zu untersuchen.

Im folgenden werden die untersuchten Systeme und die neuen experimentellen Aufbauten kurz besprochen. Details sind in den jeweiligen Publikationen zu finden.

## Struktur und Dynamik von Phenylalanin in der Gasphase

Als ein Beispiel für ein kleines System wurde die Aminosäure Phenylalanin als freies Molekül in der Gasphase untersucht [HCB08]. Begleitende Rechnungen wurden zum Teil in Kooperation mit dem TP C1 (Manz/Gerber) durchgeführt. In den Experimenten wurde beobachtet, dass das Molekül in sechs verschiedenen Konformeren vorliegen kann. Diese Konformere wurden mit Hilfe von Infrarotspektroskopie, kombiniert mit Doppelresonanz UV Spektroskopie, charakterisiert. Durch einen Vergleich der experimentellen Spektren mit Vorhersagen der Theorie konnten den Konformeren Strukturen zugeordnet werden. Zielsetzung war es dann, Konformere zu finden, welche mit Hilfe von IR-Laserpulsen ineinander überführt werden können. Dazu ist es notwendig, nicht nur die Strukturen und relativen Energien der verschiedenen Konformere zu kennen, sondern auch die der Übergangszustände welche die Konformere trennen. Zunächst wurden *ab-initio* Rechnungen durchgeführt. Ein Teil der errechneten Potentiallandschaft ist in Abb. 1 zu sehen.

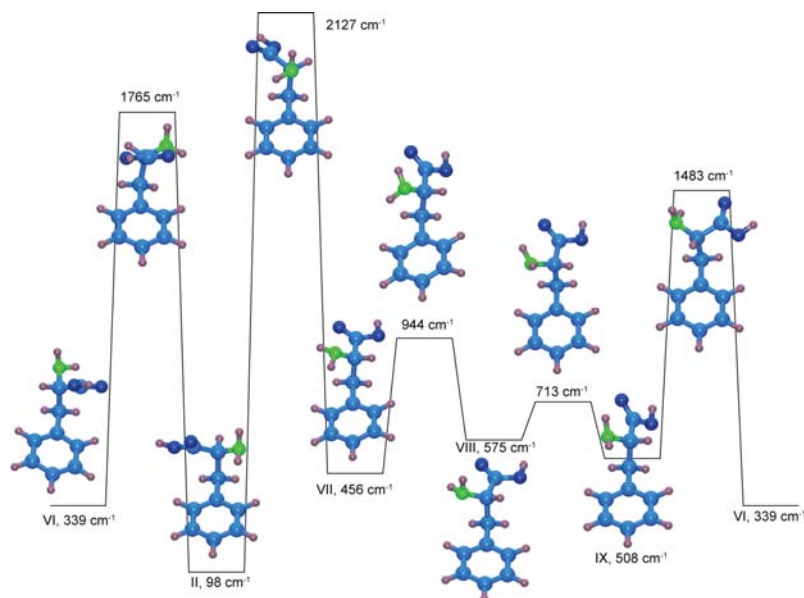


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Teiles der Potentialenergielandschaft von Phenylalanin. Gezeigt sind sechs lokale Minima sowie die Übergangszustände welche diese verbinden. Die Römischen Ziffern bezeichnen die verschiedenen Konformere (siehe [5]).

Experimentell können zur Charakterisierung der Potentialenergielandschaft spektroskopische Methoden, wie sie z.B. in der Gruppe von T. Zwiery entwickelt wurden (B.C. Dian, A. Longarte, and T. Zwiery, *Science*, **296**, 2369, 2002) herangezogen werden. In diesen Experimenten werden die Moleküle in einer Überschalldüsenexpansion mit einem Trägergas ins Vakuum gebracht. In den ersten Millimetern nach der Expansion werden sie durch Stöße stark abgekühlt, und die Strukturen verteilen sich im Konformationsraum auf verschiedene

Minima. Durch eine anschließende IR Anregung auf Niveaus oberhalb der Barriere für Konformationsänderungen kann eine Isomerisierung stattfinden. Durch anschließende weitere Stöße werden die Moleküle erneut gekühlt. In der folgenden Laserdetektion kann dann eine Populationsänderung nachgewiesen werden. Dieser Ansatz kann gut für Moleküle eingesetzt werden, welche mit einem Trägergas hinter der Düse gemischt werden können. Leider ist dies für die meisten biologischen Moleküle nicht möglich, da deren Dampfdruck zu niedrig ist.

In den am FHI durchgeführten Experimenten wurde deshalb eine modifizierte Quelle eingesetzt. Das zu untersuchende Molekül (in diesem Fall Phenylalanin) wird als dünne Schicht auf einen Graphitträger aufgetragen und dieser Träger wird direkt vor die Düsenöffnung montiert. Durch Anregung mit Hilfe eines Nd:YAG Lasers werden die Moleküle desorbiert und dann sehr schnell von dem aus der Düse ausströmenden Gas mitgerissen und gekühlt. Die so im Molekularstrahl gekühlten Moleküle können dann in einem Flugzeitmassenspektrometer mit IR-UV Doppelresonanzspektroskopie untersucht werden. So konnten die IR- und UV-Spektren von diversen Aminosäuren und Peptiden, wie z.B. Phenylalanin, gemessen werden und deren Strukturen charakterisiert werden. Ein Ziel der Experimente ist es, durch Laseranregung gezielt ein Konformer in ein anderes umzuwandeln. Zu diesem Zweck haben wir, analog zu dem oben beschriebenen Ansatz von T. Zwier und Mitarbeiter, Laseranregungsexperimente nach der Desorption im Molekularstrahl durchgeführt. In diesen Experimenten konnte ein Populationstransfer beobachtet werden. Leider ist dieser aber sehr klein, so dass systematische Studien nur sehr schwierig möglich sind. Ein Grund dafür sind die anfänglich hohen internen Energien der desorbierten Moleküle. Die Kühlung im Molekularstrahl reicht zwar aus, um Spektroskopie nach vollendeter Expansion durchzuführen. Wird aber eine weitere Anregung in der Expansion durchgeführt, reichen die verbleibenden Stöße mit dem Trägergas nicht aus, um das Molekül erneut zu kühlen. Besser ist es, Populationstransferexperimente in einem dissipativen Medium bei tiefen Temperaturen durchzuführen. Aus diesem Grund wurde die Heliumtröpfchenapparatur, welche später beschrieben wird, aufgebaut.

### **Das mikrosolvatisierte Tripeptid Z-Aib-Pro-NHMe**

Die Aminosäuresequenz Aib-Pro ( $\alpha$ -Aminoisobuttersäure - Prolin) ist von beachtlichem Interesse, da sie Knicke in Peptidketten induzieren kann (" $\beta$ -sheet breaker"). Von Pro ist bekannt, dass es häufig eine sogenannte  $\gamma$ -turn Struktur annimmt. In Lösung jedoch wird für das Molekül Z-Aib-Pro-NHMe eine  $\beta$ -turn Struktur experimentell beobachtet. Die grundsätzliche Frage ist, ob diese Struktur durch intrinsische Moleküleigenschaften

vorgegeben ist, und inwiefern Wechselwirkungen mit Lösungsmittelmolekülen eine Rolle spielen. Aus diesem Grund wurde Z-Aib-Pro-NHMe frei in der Gasphase sowie mikrosolvatisiert mit einem und zwei Methanolkolekülen spektroskopisch untersucht. Die Experimente wurden von extensiven quantenchemischen Rechnungen aus dem TP C5 (Schütte/Schmidt/Lasser) des SFB 450 begleitet.

Die Experimente und Rechnungen zeigen, dass das freie Molekül eine  $\gamma$ -turn Struktur annimmt. Werden jedoch ein oder zwei Methanolkoleküle angelagert, ändert sich die Struktur des Peptidrückrats zu einer  $\beta$ -turn Struktur.

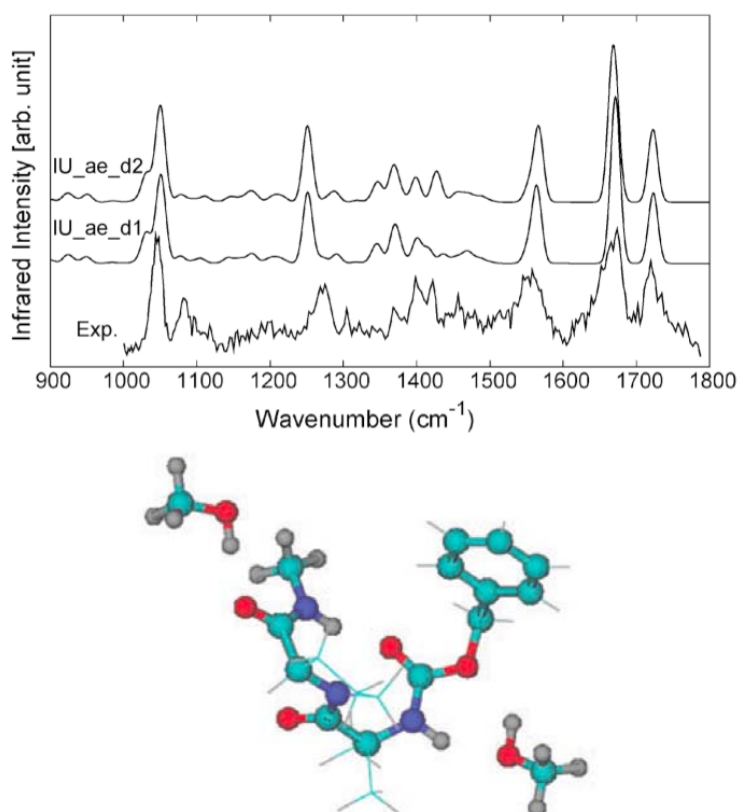
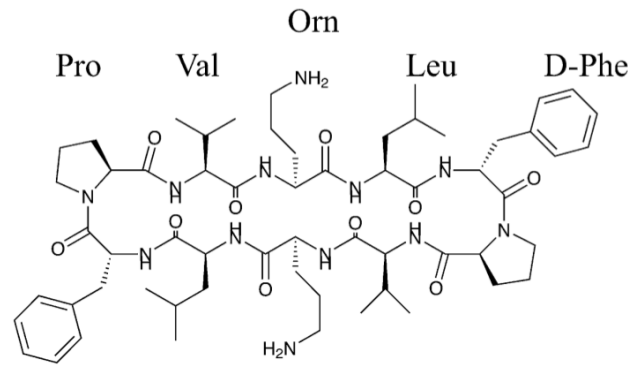


Abb. 2: Experimentelles IR Spektrum von Z-Aib-Pro-NHMe, komplexiert mit zwei Methanol-molekülen (untere Kurve), und zwei berechnete Spektren. Die dem mittleren Spektrum zugehörige Struktur ist rechts zu sehen und entspricht einem Peptidrückrat mit einer  $\beta$ -turn Struktur. Die Struktur, welche der oberen Kurve zugehörig ist hat eine ähnliche Konformation.

### Gramicidin-S, ein Modellsystem für eine $\beta$ -Faltblatt Struktur in der Gasphase?

Das zyklische Dekapeptid Gramicidin-S kommt natürlich in einigen Pilzen vor und hat antibiotische Eigenschaften. Seine Struktur in der kondensierten Phase wurde mit vielfältigen Methoden bestimmt und es besteht ein allgemeiner Konsens, dass die Peptidkette in einer antiparallelen  $\beta$ -Faltblatt Konfiguration vorliegt (siehe Abb. 3).



### gramicidin S

Abb. 3: Das Peptid Gramicidin-S (zyklo(Pro-Val-Orn-Leu-D-Phe)<sub>2</sub>). Die Struktur ist durch vier Wasserstoffbrücken in einer antiparallelen  $\beta$ -Faltblatt-Konfiguration gekennzeichnet.

Durch seine strukturellen Eigenschaften bietet sich Gramicidin-S als ein Modellsystem zur Untersuchung der Wasserstoffbrückendynamik in  $\beta$ -Faltblättern an. Im Rahmen des SFB 450 arbeitet deshalb nicht nur unser TP, sondern auch TP C9 (Gonzalez/Kühn) sowie TP B9 (Heyne) an Gramicidin-S.

Im Rahmen dieser Studie haben wir die Struktur des freien doppelt protonierten Moleküles, sowie desselbigen komplexiert mit zwei Kronenäthermolekülen mit Hilfe von IR-Spektroskopie sowie quantenchemischen Rechnungen untersucht. Abb. 4 zeigt das experimentelle IR-Spektrum (rot), sowie eine der berechneten Strukturen mit dessen theoretischen IR-Spektrum (schwarz, sowohl die Linienpositionen als auch deren Faltung mit einer Gaussfunktion sind gezeigt).

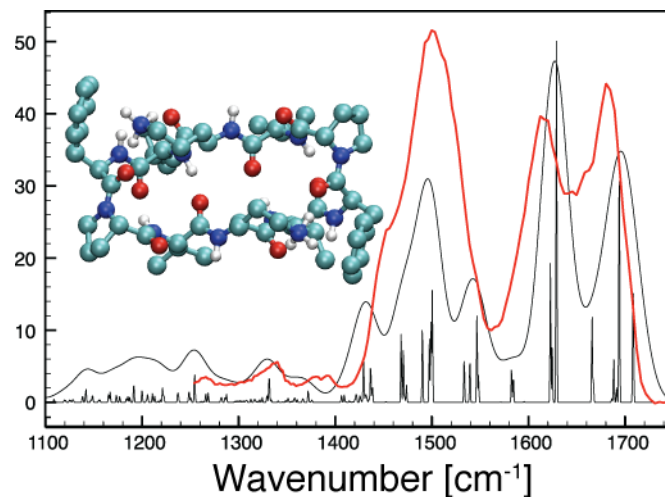


Abb. 4: Experimentelles (rot) und berechnetes IR Spektrum (rot) von Gramicidin-S.

Experiment und Rechnungen ergeben, dass die stärkste Wasserstoffbrückenbindung zwischen den geladen Seitenketten und einigen C=O Gruppen der Peptidkette vorhanden sind. Diese

Wechselwirkung kann unterbunden werden, indem das Ion mit zwei Kronenäthermolekülen komplexiert wird. Das dann erhaltene IR-Spektrum unterscheidet sich sehr stark von dem des freien Ions (siehe Abb. 4). Rechnungen bestätigen, dass diese Änderung auf die nicht mehr vorhandene Wechselwirkung der geladenen Seitenketten mit der Peptidkette und der damit verbundenen Stärkung der  $\beta$ -Faltblatt Struktur zurückzuführen sind. Interessanterweise findet sich die zu dieser Struktur passende Amide-1 ( $\text{C}=\text{O}$  streck)-Schwingung bei  $1680\text{ cm}^{-1}$ , weit verschoben von dem entsprechenden Wert in der kondensierten Phase bei  $1630\text{ cm}^{-1}$ .

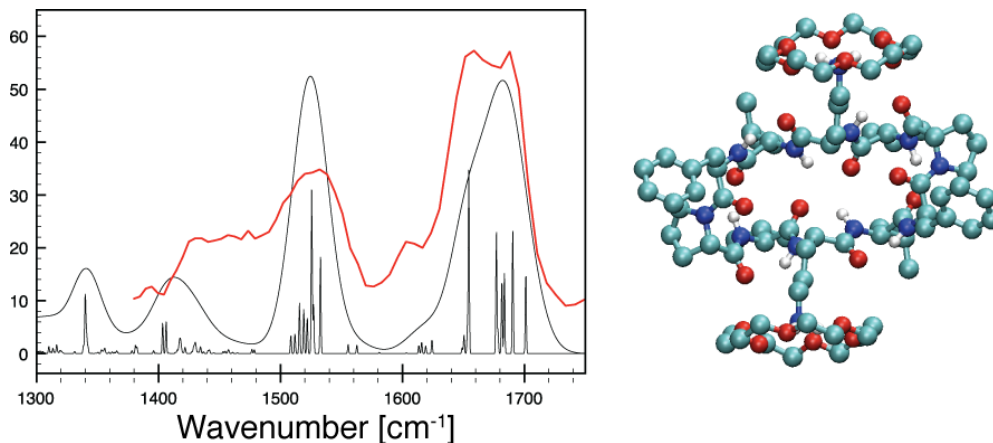


Abb. 5: Experimentelles (rot) und berechnetes IR Spektrum (schwarz) von Gramicidin-S komplexiert mit zwei Kronenäthermolekülen.

Die Experimente und Rechnungen zeigen, dass Gramicidin-S zumindest in der Gasphase kein geeignetes Modellsystem für ein  $\beta$ -Faltblattmotif darstellt. Der Grund dafür ist die, selbst bei komplexierung mit Kronenäthermolekülen, noch immer relativ schwache  $\beta$ -Faltblatt Wechselwirkung, welche sich in der geringen Rotverschiebung der entsprechenden Amide-I Bande manifestiert.

### Coiled-coil Peptide in der Gasphase

Die Sekundärstruktur sowie die Strukturen höherer Ordnung von Peptiden und Proteinen sind entscheidend für ihre Funktion. Oft können Umgebungseinflüsse diese Strukturen empfindlich beeinflussen. Dramatisch sind die Konsequenzen dann, wenn sich Proteine aus diesem Grund falsch falten, ablagern und dann zu Krankheiten wie z.B. Alzheimer führen. Deshalb ist ein Verständnis des Zusammenhanges zwischen Struktur und Umgebung sowie der Dynamik von Strukturänderungsprozessen von grundlegender Bedeutung.

In der Natur liegen ein beträchtlicher Anteil der Proteine in sogenannten coiled-coil Konfigurationen vor, welche durch zwei oder mehrere miteinander verwundene  $\alpha$ -helikale Peptidstränge charakterisiert sind. In der AG Kokschi (FU Berlin) werden seit vielen Jahren

solche Systeme synthetisiert und in der kondensierten Phase untersucht. In einer Zusammenarbeit wollten wir die Fragestellung angehen, ob coiled-coil Peptide von der kondensierten Phase in die Gasphase überführt und strukturell mit Hilfe von IR Spektroskopie charakterisiert werden können.

In Abb. 6 ist eines der untersuchten Systeme abgebildet. Auf der rechten Seite sind in einer Aufsicht längs der helikalen Achsen die Wechselwirkungen, welche das coiled-coil System stabilisieren, dargestellt. Zentral sind die stabilisierenden hydrophoben und elektrostatischen Wechselwirkungen, jeweils zwischen den Aminosäuren d und a sowie zwischen g und e. Durch Einbau von passenden Aminosäuren in c oder b können diese Wechselwirkungen verstärkt oder destabilisiert werden. Außerdem ist es möglich, an diesen Stellen entweder pH- oder Photoschalter einzubauen, um z.B. durch Änderung der Umgebung oder Einstrahlen von Licht eine Strukturänderung zu starten und deren Dynamik anschließend zu verfolgen. Solche Experimente werden in einem späteren Stadium angestrebt.

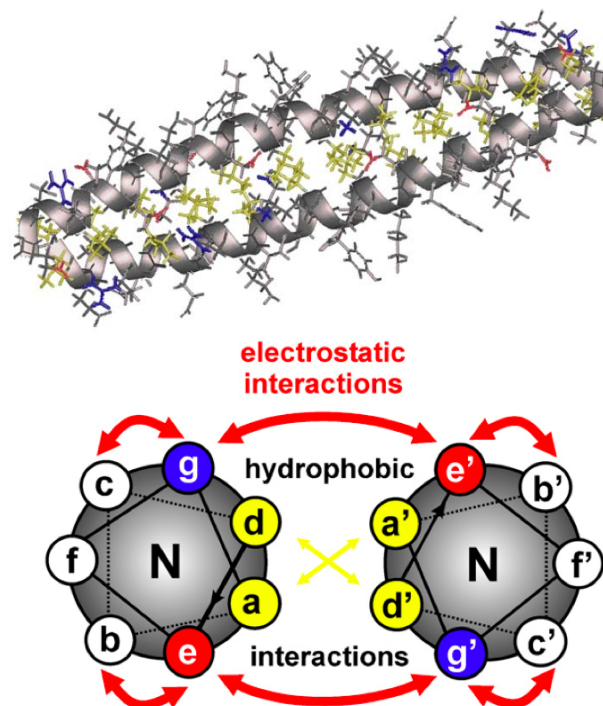


Abb. 6: Abbildung eines der untersuchten coiled-coil Systeme (links) und schematische Darstellung des Designprinzips mit den wichtigen intra- und intermolekularen Wechselwirkungen (rechts).

In den durchgeführten Experimenten wurden zwei Fragestellungen angesprochen: a) können coiled-coil Systeme intakt aus der kondensierten Phase in die Gasphase überführt werden und b) können diese Systeme dann mit Hilfe von IR-Spektroskopie charakterisiert werden. In den Experimenten zeigte sich durch Massenspektrometrie, dass die Peptidkomplexe in die



Gasphase überführt werden können. Mit der in den Niederlanden am Freie-Elektronen-Laser FELIX benutzten Ionenquelle war das Ionensignal jedoch relativ schwach, was auf konstruktiv bedingte Anregungen der Ionen während des Transfers von der Flüssig- in die Gasphase erklärt werden kann. Mit aus diesem Grunde haben wir in der Zwischenzeit in Berlin eine später beschriebene neue Apparatur aufgebaut, welche die Ionen schonender in die Gasphase überführen kann und zudem noch empfindlicher ist.

In Abb. 7 sind die IR-Spektren von zwei der untersuchten Komplexe gezeigt. Die jeweiligen Verschiebungen der Banden deuten auf eine wesentlich stärkere Wasserstoffbrückenbindung in den Komplexen hin und sind ein starkes Indiz für eine coiled-coil Struktur in der Gasphase. Weitergehende Experimente am FELIX waren leider nicht möglich und werden am FHI in der neuen Ionenmobilitätsapparatur durchgeführt.

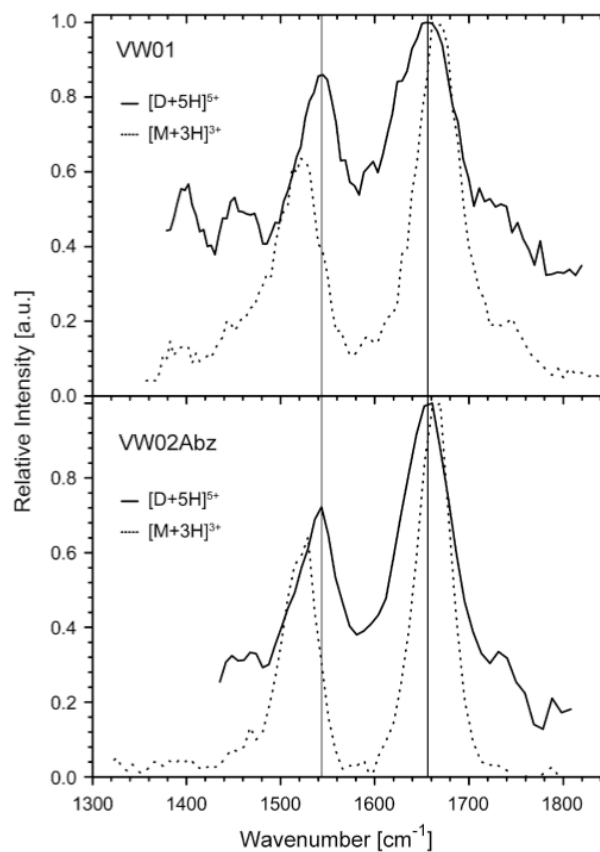


Abb. 7: IR-Spektren von zwei coiled-coil Komplexen (VW01 und VW02Abz) in der Gasphase (durchgezogene Linien). Mit gepunkteten Linien sind die Spektren der jeweiligen Monomere gezeigt. Deutlich ist eine Rotverschiebung der Amide-I Bande (C=O Streckschwingung, rechte Bande) sowie eine Blauverschiebung der Amide-II Bande (N-H Biegeschwingung, linke Bande) zu erkennen.

### Ein Konformationsselektor für neutrale Moleküle

Komplexe Moleküle können sowohl in der kondensierten Phase als auch in der Gasphase in verschiedenen Konformationen vorliegen. Deren jeweilige Populationen sind durch die

verschiedenen freien Energien der Minima auf der Potentialfläche als auch durch die Barrieren, welche diese trennen, vorgegeben. Um die Dynamik von Konformationsübergängen zu untersuchen, ist es wichtig, zum einen konformationsselektive Nachweismethoden zu haben und zum anderen Techniken zu entwickeln, mit denen Moleküle in einer einzelnen Konformation aus einem Gemisch isoliert werden können. Für geladene Teilchen bietet sich dafür die Gasphasen-Ionenchromatographie an, welche später beschrieben wird. Für neutrale Teilchen gab es bisher noch keine Technik, welche in der Lage ist, Konformere räumlich zu trennen.

Am FHI wurde in den letzten Jahren eine Reihe von Techniken entwickelt, in welchen durch zeitvariierende elektrische Felder unter Ausnutzung des Starkeffektes neutrale Moleküle räumlich und zeitlich manipuliert werden können. In der hier vorgestellten Studie wurde ein erster Aufbau verwirklicht, welcher es erlaubt, analog zu einem Quadrupol-Massenspektrometer, welche geladene Teilchen aufgrund eines unterschiedlichen Masse/Ladungsverhältnisses selektiert, Teilchen mit unterschiedlichen Masse/Dipol Verhältnis zu separieren. Das Prinzip des Experimentes ist in Abb. 8 zu sehen. Der Konformerenselektor besteht aus vier parallelen Stäben, welche paarweise auf Hochspannung gelegt werden können. Moleküle mit einem permanenten Dipolmoment erfahren in dem elektrischen Feld eine Kraft, die dem negativen Gradienten der Starkenergie proportional ist. In der Geometrie des Aufbaus wirkt diese Kraft in einer Ebene zum Zentrum des Quadrupols und in der orthogonalen Richtung aus dem Zentrum des Quadrupols. Durch schnelles hin- und herschalten zwischen den Spannungen (siehe Abb. 8) kann eine Situation erreicht werden in welcher der Filter netto-fokussierend für ein bestimmtes Dipolmoment ist und nicht- oder defokussierend für die meisten anderen wird. Als erstes Testmolekül wurde 3-Aminophenol gewählt. Dieses Molekül kommt in der Gasphase in zwei Konfigurationen vor, cis und trans, welche deutlich unterschiedliche Dipolmomente haben (siehe Abb. 8). Da beide Konfigurationen auch eine unterschiedliche Lage des ersten elektronisch angeregten Zustandes besitzen, können sie selektiv mittels resonanter Zweiphotonenionization detektiert werden.

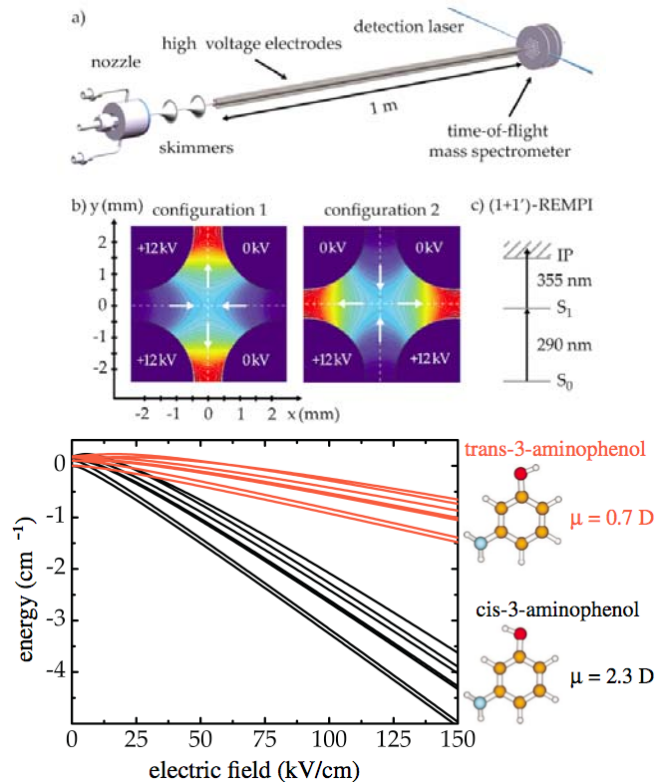


Abb. 8: Schematische Darstellung des experimentellen Ansatzes (links). Moleküle werden mit einem Trägergas in die Gasphase gebracht. Im schaltbaren Feld zwischen den vier Stabelektroden kann eine effektive Fokussierung für bestimmte Dipolmomente erreicht werden. Als Testmolekül wurde 3-Aminophenol benutzt (rechts).

Die Transmission als Funktion der Schaltfrequenz bei festen Hochspannungen kann nun für beide Konfigurationen gemessen werden. Das Resultat ist in Abb. 9 zu sehen. Ohne elektrisches Feld oder bei niedriger Schaltfrequenz wird deutlich mehr trans- als cis-3-Aminophenol beobachtet. Bei einer Schaltfrequenz von ca. 3 kHz überwiegt der Anteil von cis-3-Aminophenol stark.

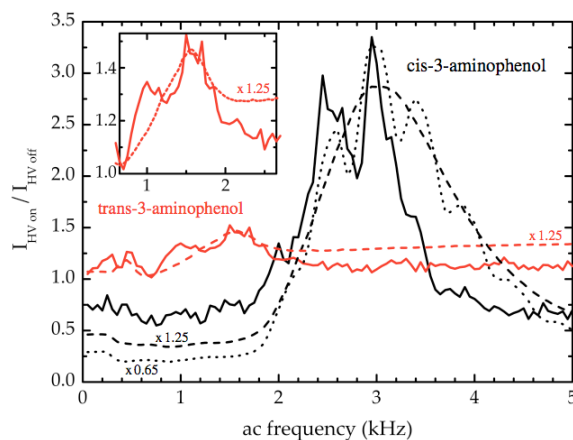


Abb. 9: Konfigurationsverteilung von trans- und cis-3-Aminophenol, gemessen nach dem Selektor, als Funktion der Schaltfrequenz. Durchgezogene Linien sind experimentell und gestrichelte bzw. gepunktete die Resultate von Simulationen. Deutlich zu beobachten ist eine Überhöhung von cis-3-Aminophenol bei einer Schaltfrequenz von ca. 3 kHz.

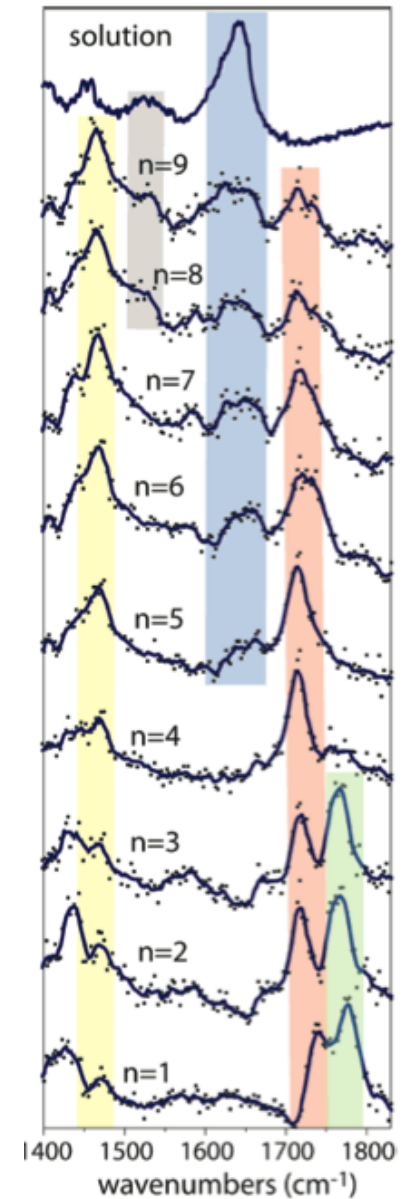
Der weiter optimierte hier gezeigte Ansatz wird in Zukunft dafür benutzt, um Molekularstrahlen mit wohl definierter Konformerenverteilung zu produzieren, um deren Interkonversionsdynamik zu untersuchen.

### Mikrosolvatisiertes Tryptophan

Wie schon angesprochen, kann die Umgebung eines Moleküls einen starken Einfluss auf die Konformation und auch auf die interne Ladungsverteilung haben. So liegen z.B. Aminosäuren in wässriger Lösung zwitterionisch mit der Säuregruppe deprotoniert und der Aminogruppe protoniert vor. In der Gasphase sind freie Aminosäuren bisher nur intern neutral beobachtet worden. Eine interessante Fragestellung ist deshalb, wie viele Lösungsmittelmoleküle notwendig sind, um eine zwitterionische Struktur zu stabilisieren. Aus diesem Grund wurden Experimente am Freie-Elektronen-Laser FELIX durchgeführt, um mikrosolvatisierte Tryptophan Moleküle durch IR-Spektroskopie zu charakterisieren.

In der rechts gezeigten Abbildung sind IR-Spektren von Tryptophan, solvatisiert mit 1 bis 9 Methanolköulen gezeigt. Zum Vergleich ist im obersten Spektrum das von Tryptophan in Methanol gelöst zu sehen. Die Banden in den Spektren können verschiedenen charakteristischen Moden in den Molekülen zugeordnet werden. So stammen die Banden zwischen  $1700$  und  $1800\text{ cm}^{-1}$  von  $\text{C}=\text{O}$  Streckschwingungen in intern neutralen Molekülen. Die Banden, welche blau und grau hinterlegt sind, nahe  $1650\text{ cm}^{-1}$  und  $1520\text{ cm}^{-1}$  stammen von  $\text{CO}_2^-$  und  $\text{NH}_3^+$  Gruppen in zwitterionischen Molekülen. Die gelb hinterlegte Bande zwischen  $1450$  und  $1500\text{ cm}^{-1}$  stammt von Methanol-Molekülen. Deutlich zu erkennen sind erste Anzeichen einer zwitterionischen Struktur, wenn fünf Methanol Moleküle anwesend sind. Diese dominiert, wenn noch mehr Methanol anwesend ist.

Im Falle von Wasser sind ähnliche Beobachtungen gemacht worden. Aufgrund von spektralen Überlappungen sind diese Spektren jedoch nicht so aussagekräftig.



Die Experimente wurden von quantenchemischen Rechnungen begleitet. Strukturen und IR-Spektren wurden sowohl für neutrale als auch zwitterionische Komplexe mit bis zu sechs Wassermolekülen berechnet. Diese Rechnungen zeigen, dass für den Fall des sechs-Wassermoleküle-Komplexes die neutrale und zwitterionische Form nahezu isoenergetisch sind.

### **Massen/Ladung-selektierte Molekülionen in superfluiden Helium-Tröpfchen**

Flüssige Heliumtröpfchen stellen für Moleküle eine Umgebung mit außergewöhnlichen Eigenschaften dar. Durch Verdampfungskühlung erreichen die Tröpfchen sehr schnell eine Endtemperatur von 0.4 K und sind bei diesen Temperaturen suprafluid. Optische Spektroskopie hat gezeigt, dass Moleküle in Heliumtröpfchen frei rotieren können. Außerdem sind die Tröpfchen optisch transparent vom Vakuum UV bis zum fernen IR. Aus diesem Grund sind flüssig Helium Tröpfchen eine nahezu ideale Matrix für Experimente um die Spektroskopie und Dynamik der eingeschlossenen Moleküle zu untersuchen.

In fast allen bisherigen Experimenten werden neutrale Moleküle in Tröpfchen eingelagert, indem ein Tröpfchenstrahl durch eine Gaszelle geleitet wird und die Moleküle dann mechanisch von den Tröpfchen eingefangen werden. Dies gelingt nur, wenn man in der Lage ist, die zu untersuchenden Moleküle intakt in notwendigen Konzentrationen in die Gasphase zu bekommen. Da für die meisten (Bio)moleküle der Dampfdruck sehr niedrig ist bzw. die Moleküle sich beim Verdampfen zersetzen, konnten bisher nur in Einzelfällen sehr kleine Biomoleküle in Heliumtröpfchen untersucht werden. Wir haben am FHI einen anderen neuen Ansatz gewählt, um Masse/Ladungselektierte biomolekulare Ionen in Heliumtröpfchen einzufangen. Der experimentelle Aufbau und erste Ergebnisse sind in Abb. 10 gezeigt.

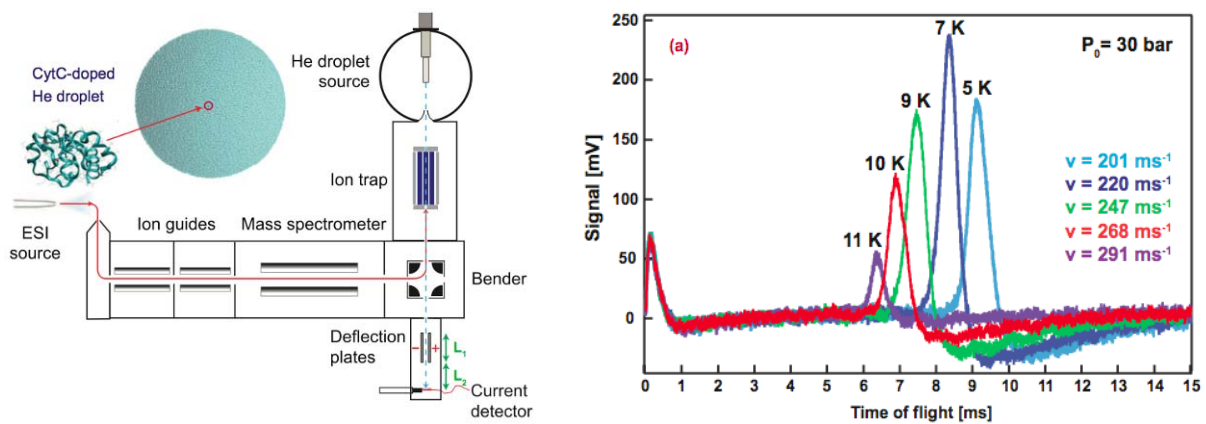


Abb. 10: Experimenteller Aufbau um Masse/Ladungsselektierte Ionen in Heliumtröpfchen einzufangen (links) und erste Ergebnisse für das Protein Cytochrome C (rechts).

Das zu untersuchende Molekül wird mit Hilfe von "Electrospray Ionisation" (ESI) als geladenes Teilchen in die Gasphase gebracht. Nach Massenselektion durch einen Quadrupol-Massenfilter werden die Ionen um  $90^\circ$  abgelenkt und in einer Ionenfalle eingefangen. Der gepulste Heliumtröpfchenstrahl traversiert die Falle und kann dabei Ionen einfangen. Diese somit dotierten Tröpfchen können die Falle verlassen, da deren kinetische Energie durch deren hohe Masse größer als das Fallenpotential ist. Anschließend können die ionendotierten Tröpfchen untersucht werden. In ersten Experimenten wurden verschiedene Ionen, angefangen von kleinen protonierten Aminosäuren bis hin zu großen ( $m > 12\,000$  amu) Proteinen, in Heliumtröpfchen eingefangen. Im rechten Teil der Abbildung 10 sieht man das Signal von Tröpfchen, geladen mit dem Protein Cytochrom C, als Funktion der Zeit. Bei  $t=0$  wird ein kurzer Puls von der Tröpfchenquelle emittiert. Kurz danach werden Ionen eingefangen und diese dann geladenen Tröpfchen erreichen nach 6-10 ms den Detektor. Wird die Temperatur der Quelle variiert, so ändert sich die Tröpfchengeschwindigkeit und somit die Ankunftszeit am Detektor. Für Quellentemperaturen oberhalb von 11 K wird kein Signal mehr beobachtet. Der Einsatz von Heliumtröpfchen wird einen großen Schritt nach vorne für die oben beschriebenen, bisher getätigten Experimente bedeuten. Zum einen können in der kalten Umgebung optische Spektren gemessen werden, welche in Auflösung und Aussagekraft die bisher gemessenen deutlich übersteigen. Zum anderen sind nun auch Dynamikexperimente in einer ultrakalten, schwach gekoppelten aber trotzdem dissipativen Umgebung möglich. Dadurch hat man ein Werkzeug zur Hand, mit der z.B. die Dynamik von Umlagerungsprozessen oder auch lasergetriggerten chemischen Reaktionen beobachtet werden können.

## Ein Konformationsselektor für Ionen in der Gasphase

Viele komplexe aber auch einfachere Moleküle liegen in der Gasphase (und auch in der kondensierten Phase) in einer Vielzahl von verschiedenen Konformeren vor. Zu deren räumlichen und zeitlichen Trennung kann die Gasphasen-Ionenchromatographie (IC) benutzt werden. In IC wird ein kurzer Ionenpuls in ein Puffergas (Helium) bei typisch 1-10 mbar injiziert und ein konstantes schwaches elektrisches Feld zieht die Ionen durch das Gas. Kompaktere Konformere haben eine höhere Driftgeschwindigkeit und erreichen das Ende der Driftstrecke früher als weniger kompakt aufgebaute Konformere. Die so nach Konformeren getrennten Ionen können im Anschluß weiter durch Massenspektrometrie und optische Spektroskopie untersucht werden. Der Experimentelle Aufbau und erste Ergebnisse sind in Abb. 11 zu sehen.

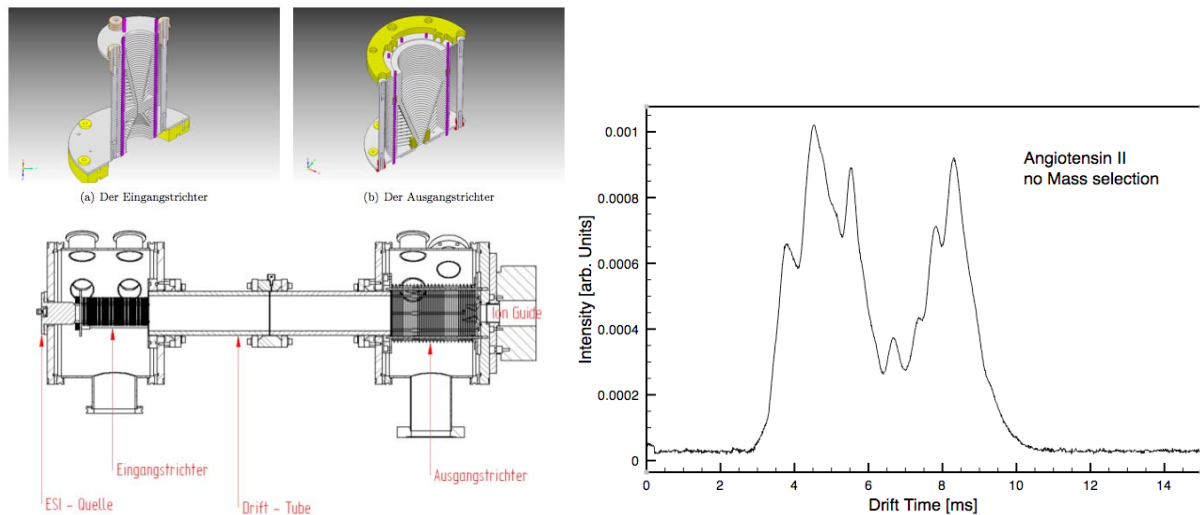


Abb. 11: Experimenteller Aufbau zur Konformerentrennung durch Gasphasen-Ionenchromatographie (links) und erste Ergebnisse für das Peptid Angiotensin II (acht Aminosäuren,  $m \approx 1000$  amu) (rechts).

Die Moleküle werden durch nano-ESI in die Gasphase gebracht. Nach Konformerentrennung in einer 40 cm langen Driftstrecke werden die Ionen detektiert. Eine Kopplung zu einem Massenspektrometer wird in Kürze erfolgen. Rechts in Abb. 11 ist ein Chromatogramm für das Peptid Angiotensin II zu sehen. Da noch keine Massentrennung vorhanden ist, sind die verschiedenen Peaks in der Abbildung nicht nur verschiedenen Konformeren, sondern auch verschiedenen Oligomeren zuzuordnen.

Die IC Apparatur wird 2010/2011 mit der Heliumtröpfchenapparatur gekoppelt. Dadurch werden dann Experimente an konformer- und masse/ladung-selektierten Teilchen unter ultrakalten Bedingungen möglich.

### 5.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- [KPM10] P. Kupser, F. Bierau, G. Meijer, G. von Helden, "Catching proteins in liquid helium droplets", Phys. Rev. Lett (im Druck).
- [ZBC10] H. Zhu, M. Blom, I. Compagnon, A. M. Rijs, S. Roy, G. von Helden, und B. Schmidt, "Conformations and vibrational spectra of a model tripeptide: change of secondary structure upon micro-solvation", Phys. Chem. Chem. Phys. 12, 3415-3425 (2010).
- [KPO10] P. Kupser, K. Pagel, J. Oomens, N. Polfer, B. Koks, G. Meijer, und G. von Helden, "Amide-I and -II Vibrations of the Cyclic  $\beta$ -Sheet Model Peptide Gramicidin S in the Gas Phase", J. Am. Chem. Soc. 132, 2085-2093 (2010).
- [KKB09] K. Pagel, P. Kupser, F. Bierau, N. C. Polfer, J. D. Steill, J. Oomens, G. Meijer, B. Koks und G. von Helden., "Gas-phase IR spectra of intact alpha-helical coiled coil protein complexes", Int. J. Mass Spectrom. Ion Process. 283, 161-168 (2009).
- [HCB08] G. von Helden, I. Compagnon, M. N. Blom, M. Frankowski, U. Erlekam, J. Oomens, B. Brauer, R. B. Gerber, und G. Meijer., "Mid-IR spectra of different conformers of phenylalanine in the gas phase", Phys. Chem. Chem. Phys. 10, 1248-1256 (2008). □
- [FEH08] F. Filsinger, U. Erlekam, G. von Helden, J. Kupper, und G. Meijer., "Selector for structural isomers of neutral molecules", Phys. Rev. Lett. 100, 133003 (2008).
- [BCP07] M. N. Blom, I. Compagnon, N. C. Polfer, G. von Helden, G. Meijer, S. Suhai, B. Paizs, und J. Oomens. "Stepwise solvation of an amino acid: The appearance of zwitterionic structures", J. Phys. Chem. A 111, 7309-7316 (2007).

### 5.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 07/2004 bis 06/2010 gefördert.

| Haushalts-jahr | Personalmittel | Sachmittel | Investitionsmittel | Gesamt |
|----------------|----------------|------------|--------------------|--------|
| 2007/2         | 29.4           | 0          | 0                  | 29.4   |
| 2008           | 58.8           | 0          | 0                  | 58.8   |
| 2009           | 58.8           | 0          | 0                  | 58.8   |
| 2010/1         | 29.4           | 0          | 0                  | 29.4   |
| Summe          | 176.4          | 0          | 0                  | 176.4  |

(Alle Angaben in Tausend EUR)



## 5.3.1 Personal im Teilprojekt

|   | Name, akad. Grad,<br>Dienststellung | engeres Fach des<br>Mitarbeiters | Institut der Hochschule<br>oder der außeruniv.<br>Einrichtung | im SFB tätig von<br>(Monat / Jahr) bis<br>(Monat / Jahr) | Entgelt-<br>gruppe |
|---|-------------------------------------|----------------------------------|---|--|--------------------|
| <b>Grundaussstattung</b>                                |                                     |                                  |   |  |                    |
| wissenschaftl.<br>Personal<br>(einschl.<br>Hilfskräfte) | 1. von Helden, Gert,<br>Ph., Dr.    | Chemie                           | FHI   | 07/2004 – 06/2010  |                    |
|   | 2. Meijer, Gerard, Prof.<br>Dr.     | Physik                           | FHI   | 07/2004 – 06/2010  |                    |
| <b>Ergänzungsaussstattung</b>                           |                                     |                                  |   |  |                    |
| wissenschaftl.<br>Personal<br>(einschl.<br>Hilfskräfte) | 3. Erlekm, Undine,<br>Doktorandin   | Chemie                           | FHI   | 06/2007 – 01/2008  | BAT IIa2/3         |
|   | 4. Bierau, Frauke,<br>Doktorandin   | Chemie                           | FHI   | 07/2007 – 12/2009  | BAT IIa2/3         |
|   | 5. Kupser, Peter,<br>Doktorand      | Physik                           | FHI   | 06/2008 – 06/2010  | BAT IIa2/3         |

