

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM  
KARLSRUHE**

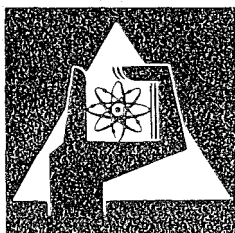
August 1976

KFK 2335

Institut für Experimentelle Kernphysik

**Untersuchungen am Tabak-Mosaik-Virus mit Hilfe des  
Mössbauereffekts an  $J^{129}$**

H. Haffner



**GESELLSCHAFT  
FÜR  
KERNFORSCHUNG M.B.H.**

**KARLSRUHE**

Als Manuskript vervielfältigt

Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor

GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.  
KARLSRUHE

KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE

KFK 2335

Institut für Experimentelle Kernphysik

UNTERSUCHUNGEN AM TABAK-MOSAIK-VIRUS MIT  
HILFE DES MÖSSBAUEREFFEKTS AN  $J^{129}$ \*)

H. Haffner

\*) von der Fakultät für Physik der Universität  
Karlsruhe genehmigte Dissertation

Diese Arbeit wurde mit Mitteln der Deutschen  
Forschungsgemeinschaft gefördert.

Gesellschaft für Kernforschung m.b.H., Karlsruhe



Investigations of tobacco mosaic virus with the aid  
of Mössbauer effect on  $J^{129}$

A b s t r a c t

The experimental determination of the electric quadrupole coupling constant of  $J^{129}$  enables the investigation of special problems related to the quaternary structure of the tobacco mosaic virus.

Aiming information on their chemical bonds the amino acids tyrosine 139 and cysteine 27 in the tobacco mosaic virus were iodinated and the Mössbauer spectra of the probes were taken at different pH-values.

The results prove the existence of a hydrogen bond at the hydroxyl group of tyrosine 139 and exclude the formation of a cystine bridge at cysteine 27 in the tobacco mosaic virus.

Untersuchungen am Tabak-Mosaik-Virus mit Hilfe  
des Mößbauereffekts an  $J^{129}$

### Zusammenfassung

Die Messung der elektrischen Quadrupolaufspaltung an  $J^{129}$  ist geeignet, spezielle Probleme der Quartärstruktur des Tabak-Mosaik-Virus zu untersuchen.

Dazu wurden die Aminosäuren Tyrosin 139 und Cystein 27 im Tabak-Mosaik-Virus jodiert und die Mößbauerspektren von Absorbern bei verschiedenen pH-Werten gemessen.

Die Ergebnisse deuten eine Wasserstoffbrücke an der Hydroxylgruppe des Tyrosin 139 an und schließen die Bildung einer Disulfidbrücke am Cystein 27 im Tabak-Mosaik-Virus aus.

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Der Mößbauereffekt an $J^{129}$	3
3. Das Experiment	6
3.1 Versuchsanordnung	6
3.2 Quellen und Absorber	9
3.3 Messung und Auswertung	15
3.4 Ergebnisse	22
4. Diskussion der Ergebnisse	24

## Anhang

A. Herstellung der Absorber	28
A.1 Präparation der Jodlösung	28
A.2 Jodierung von l-Tyrosin	29
A.3 Jodierung des Tabak-Mosaik-Virus	29
B. Eichmessungen	31
B.1 Geschwindigkeitseichung mit Hilfe von Referenzspektren	31
B.2 Eichung von Spektren mit einem Laser-Interferometer	33
B.3 Überprüfung der Eichverfahren	36

## 1. Einleitung

Die in der Kern- und Festkörperphysik bewährte Untersuchungsmethode mit Hilfe des Mößbauereffektes wird seit vielen Jahren bei der Strukturaufklärung von chemischen Verbindungen angewendet. Bei der Ausdehnung der Methode auf biologische Moleküle werden vorwiegend die Eigenschaften des Isotops  $\text{Fe}^{57}$  ausgenutzt. Im Falle der eisenhaltigen Verbindungen wie Häm- und Eisen-Schwefel-Proteine sind Aussagen über den chemischen Zustand und die Umgebung des Eisenatoms gewonnen worden [1].

Besondere Bedeutung kommt jedoch bei biologischen Untersuchungen dem Element Jod zu. Jod tritt in einer Vielfalt organischer Verbindungen auf und kann durch Einbau in bestimmte Aminosäuren an definierte Plätze in Eiweißmolekülen gebracht werden.

Bei Jod sind zwei Mößbauerisotope bekannt:  $\text{J}^{127}$  und  $\text{J}^{129}$ . In der vorliegenden Arbeit wird der Mößbauereffekt am Isotop  $\text{J}^{129}$  beobachtet. Es bietet gegenüber  $\text{J}^{127}$  eine um den Faktor vier kleinere Linienbreite. Dies ermöglicht die Messung vollständig aufgelöster Mößbauerspektren [2,3].

Als Beispiel für die Anwendung der Mößbauerspektroskopie an komplexen Proteinen ist das Tabak-Mosaik-Virus (TMV) ausgewählt worden. Im Rahmen dieser Arbeit soll am TMV als Modell gezeigt werden, daß die Untersuchung mit Hilfe des Mößbauereffektes eine empfindliche Methode ist, um spezielle Strukturfragen zu klären.

Das TMV bietet in mehrfacher Hinsicht günstige Voraussetzungen. Die Struktur des Virus ist durch röntgenspektrographische Methoden eingehend untersucht worden [4,5]. Die Polypeptidkette des TMV-Proteins enthält die Aminosäuren Tyrosin und Cystein, die mit bekannten Verfahren zu jodieren sind [6,7]. Nicht zuletzt stellt das TMV ein stabiles und vergleichsweise leicht herstellbares System dar.



Dagegen ist die Beteiligung bestimmter chemischer Bindungen am Zustandekommen der Quartär-Struktur des Moleküls ungeklärt. Z.B. ist unbekannt, ob eine Wasserstoffbrücke am Tyrosin mitverantwortlich für den helikalen Aufbau des TMV ist. Um diese Frage beantworten zu können, ist es erforderlich, zuerst die Änderung der Mößbauerspektren von freien Tyrosinmolekülen bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen (pH-Wert) zu untersuchen. Die Messungen ergeben eine empfindliche Abhängigkeit der Mößbauerparameter vom pH-Wert der Tyrosinlösung. Mit dieser Information ist es möglich, gemessene TMV-Spektren zu deuten. Eine Abweichung der Spektren von der erwarteten Form zeigt eine Änderung der Bindung des Tyrosinmoleküls im TMV an. Zusätzliche Messungen am TMV bei geänderten pH-Werten sollen diesen Punkt genauer klären.

Weiterhin ist es gelungen, an der Aminosäure Cystein, die als freies Molekül nicht stabil zu jodieren ist, im TMV ein Wasserstoffatom durch Jod zu ersetzen und das Mößbauerspektrum zu messen. In vielen Aminosäureketten biologischer Moleküle bilden sich am Cystein Disulfid-Brücken aus. Diese Möglichkeit wird durch den Nachweis einer stabilen Sulfenyljodid-Bindung im Cystein des TMV-Proteins ausgeschlossen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß die Mößbauer-methode ein geeignetes Verfahren ist, Aussagen über die Struktur von komplexen organischen Molekülen zu treffen, die mit anderen, in der Molekülspektroskopie üblichen Verfahren nicht gewonnen werden können.

## 2. Der Mößbauereffekt an $J^{129}$

Das Mößbauerniveau in  $J^{129}$  bei 27,8 keV wird durch einen isomeren Übergang unter Emission von  $\gamma$ -Strahlung von  $Te^{129m}$  und anschließenden  $\beta^-$ -Zerfall bevölkert (Fig. 1).

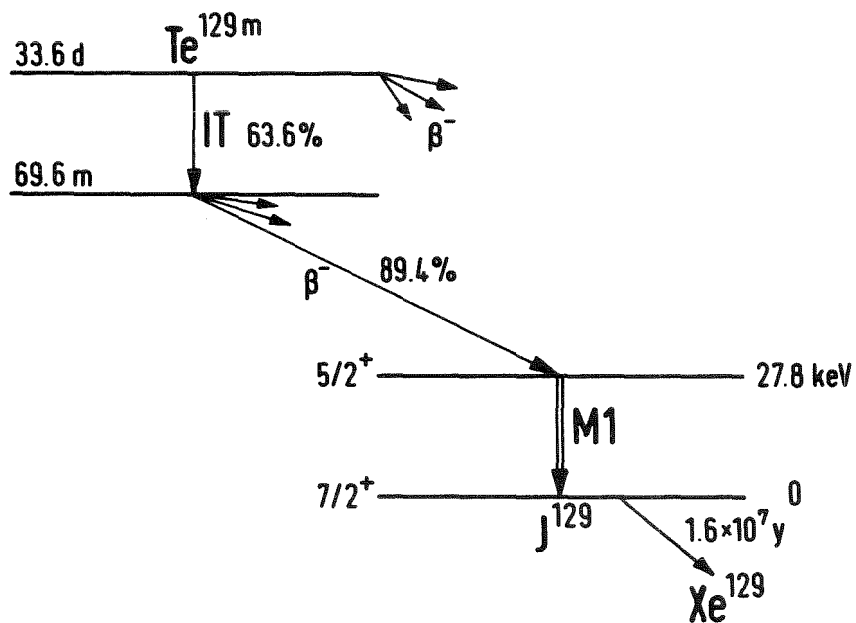


Fig. 1: Vereinfachtes Zerfallsschema von  $Te^{129m}$  [8].

Liegt am Kernort ein rotationssymmetrischer elektrischer Feldgradient (EFG) vor, so spalten aufgrund der Wechselwirkung von Kernquadrupolmoment  $Q$  und elektrischem Feldgradienten  $V_{zz}$  die Kernzustände gemäß

$$E(I, m) = \frac{e Q V_{zz} [3m^2 - I(I + 1)]}{4I(2I - 1)} \quad (1)$$

in Unterzustände auf. (I: Kernspin, m: z-Komponente des Kernspins. Es ist üblich, das Achsensystem des Resonatoratoms so zu wählen, daß  $V_{zz}$  den Maximalwert des elektrischen Feldgradienten darstellt. Die Einstellung der Kernachse bezüglich der Hauptachse z ist quantisiert.)

Für den Mößbauerübergang  $5/2^+ \rightarrow 7/2^+$  in  $J^{129}$  bedeutet dies eine Aufspaltung des angeregten in drei und des Grundzustandes in vier m-Zustände (Fig. 2).

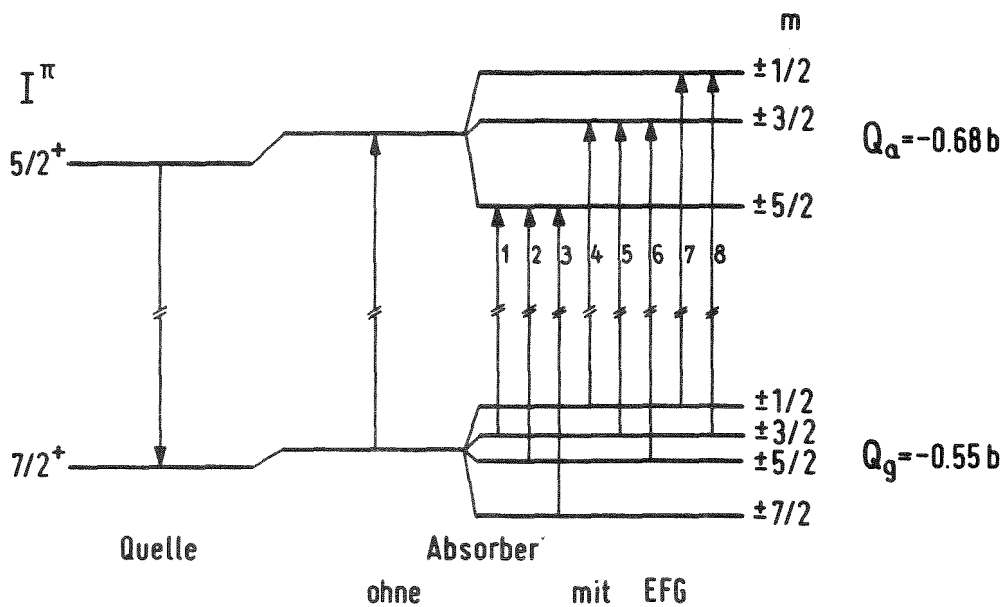


Fig. 2: Aufspaltung des  $5/2^+$ - und  $7/2^+$ -Zustandes in  $J^{129}$  [3].

Beim Übergang wird M1-Strahlung emittiert [8]. Die Auswahlregel für Dipolstrahlung ergibt acht Übergänge, die aufgrund der unterschiedlichen Quadrupolmomente für

Grund- und angeregten Zustand energetisch getrennt sind (Fig. 2). Die Übergänge 1 und 2 befinden sich außerhalb des in dieser Arbeit betrachteten Energiebereichs von  $v = - 13$  mm/sec bis  $v = + 13$  mm/sec Dopplergeschwindigkeit ( $E = E_0 \cdot \frac{v}{c}$ ;  $E_0$  - Übergangsenergie zwischen den unaufgespaltenen Zuständen,  $c$  - Lichtgeschwindigkeit). Da die Intensitäten dieser Linien im Vergleich zu den anderen Übergängen klein sind, ist die statistische Genauigkeit nicht ausreichend. Die Beschränkung des Energiebereichs bringt deshalb keinen wesentlichen Informationsverlust. Demgegenüber ergibt sich bei gleicher Anzahl der Meßpunkte eine erhöhte Auflösung der übrigen Linien.

Weitere vier Übergänge sind möglich, wenn der elektrische Feldgradient nicht rotationssymmetrisch und  $m$  damit keine gute Quantenzahl mehr ist. Da die Verteilung der Bindungselektronen des Jodatoms bei den gemessenen Absorbern nahezu axialsymmetrisch ist, ist die Abweichung des Feldgradienten von der Rotationssymmetrie gering. Die Übergänge haben deshalb kleine Intensitäten und sind nicht beobachtbar.

Die in dieser Arbeit gezeigten Spektren weisen somit jeweils sechs Linien (Nr. 3 bis 8 in Fig. 2) auf.

### 3. Das Experiment

#### 3.1 Versuchsanordnung

Zur Durchführung der Messungen wird die in Fig. 3 gezeigte Anordnung gewählt. Die Mößbauerspektren werden in Transmission beobachtet. Die Quelle wird relativ zum fest eingebauten Absorber bewegt.

Zur Erzeugung der Dopplerverschiebung der Quantenenergie wird ein elektromechanisches Antriebssystem der Firma Elscint verwendet. Das System wird mit konstanter Beschleunigung betrieben, d.h. in einem Zyklus wird der gesamte vorgewählte Geschwindigkeitsbereich linear durchlaufen. Die Bewegung wird über ein Balgsystem als Vakuumdurchführung und ein Rohr an die Quelle übertragen. Quelle und Absorber befinden sich in einem Heliumkryostaten. Zur Verminderung des Heliumverbrauchs ist das Heliumgefäß von einem Stickstoffmantel umgeben. Die Anordnung erlaubt es, Quelle und Absorber auf eine Temperatur von 4,2 K zu kühlen. Dies ist zur Erhöhung der Resonanzabsorption erforderlich, da der Debye-Waller-Faktor bei Zimmertemperatur verschwindet und selbst bei Stickstofftemperatur an den gemessenen Absorbern zu klein ist. Auf eine Temperaturmessung am Absorber wird verzichtet, da dieser sich direkt im flüssigen Helium befindet. Die Quelle wird durch eine Membrane gekühlt, die gleichzeitig das Übertragungsrohr zentriert. Die Quellentemperatur wird mit einem geeichten Germaniumwiderstand gemessen, der in der Quellenhalterung montiert ist. Die Messung ergibt auch am Ort der Quelle eine Temperatur von  $(4,2 \pm 0,5)K$ . Dies entspricht der Temperatur des flüssigen Heliums bei Normaldruck.

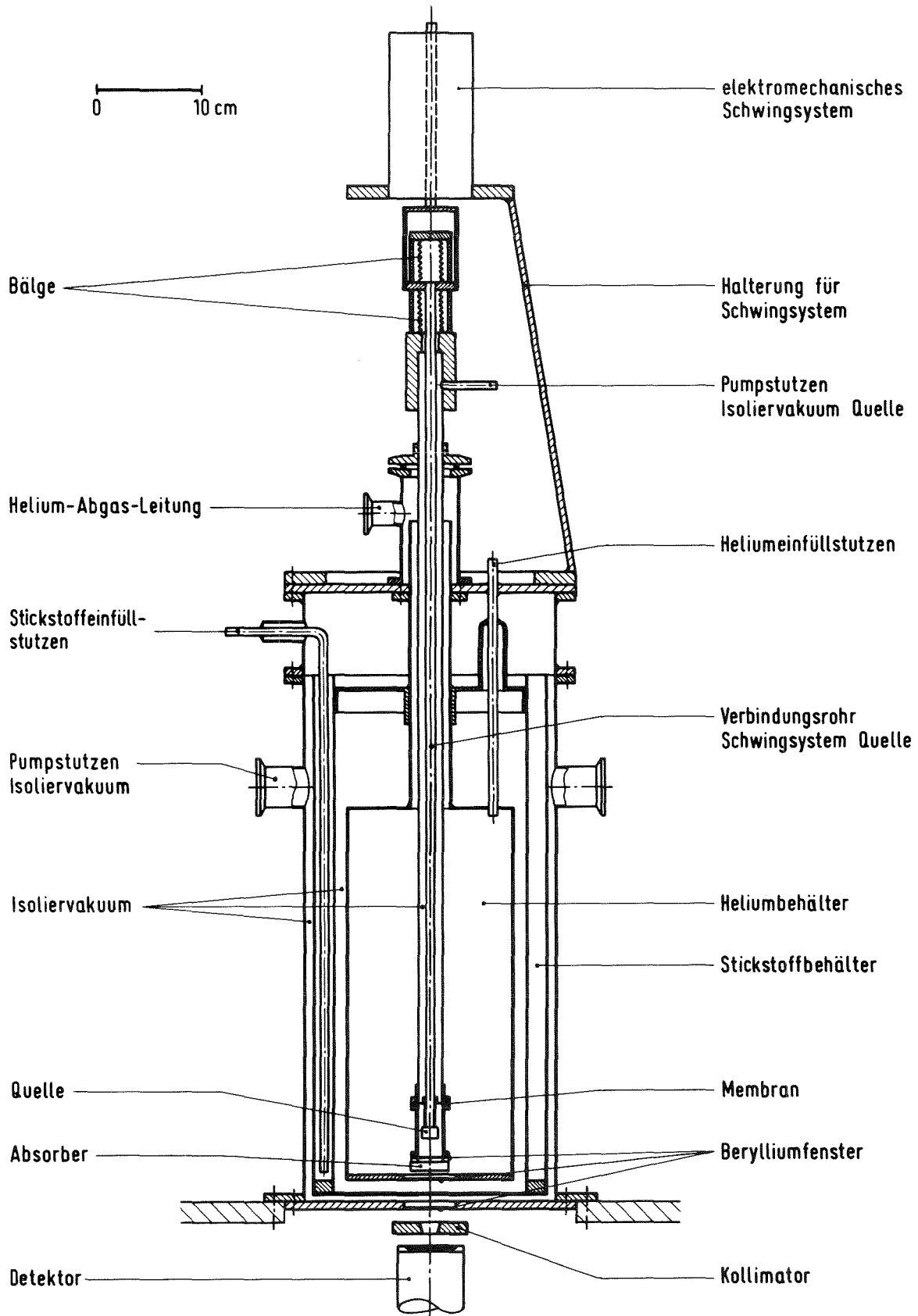


Fig. 3: Versuchsanordnung

Die Fenster des Heliumgefäßes und des Kryostaten sind in 0,5 mm starkem Beryllium ausgeführt, um die Absorption der 27,8 keV-Mößbauerstrahlung gering zu halten.

$J^{129}$  ist kein stabiles Isotop; es zerfällt mit einer Halbwertszeit von  $1,6 \cdot 10^7$  Jahre unter  $\beta^-$ -Emission in den 39,6 keV-Zustand des  $Xe^{129}$ . Der 39,6 keV  $\gamma$ -Übergang ist stark konvertiert. Zur Reduzierung der Röntgenstrahlung von 30,4 keV, die in einem Szintillationsdetektor neben 27,8 keV nicht aufzulösen ist, wird eine Indiumfolie mit einer Massenbelegung von  $70 \text{ mg/cm}^2$  zwischen Absorber und Detektor eingebracht. Sie schwächt die Röntgenstrahlung um den Faktor elf, während die 27,8 keV  $\gamma$ -Quanten nur zu 50% absorbiert werden. Zum Nachweis der Mößbauerstrahlung dient ein  $1 \frac{1}{2}'' \times 1 \text{ mm}$  NaJ(Tl) Szintillationskristall mit Berylliumfenster. Die Impulse aus dem Elektronenvervielfacher werden über einen Verstärker einem Einkanal-Diskriminator zugeführt, der den maßgebenden Energiebereich ausblendet. Die Impulse aus dem Einkanal-Diskriminator werden in einem im "Multiscaling-Betrieb" arbeitenden Vielkanalanalysator registriert. Die Kanalfortschaltung des Analysators wird vom Funktionsgenerator entsprechend der am Antriebssystem vorliegenden Geschwindigkeit gesteuert.

Im Vielkanalanalysator wird somit ein Spektrum in Abhängigkeit von der Geschwindigkeit der Quelle aufgezeichnet.

Das Blockschaltbild in Fig. 4 gibt einen Überblick über die Komponenten des Mößbauerspektrometers.

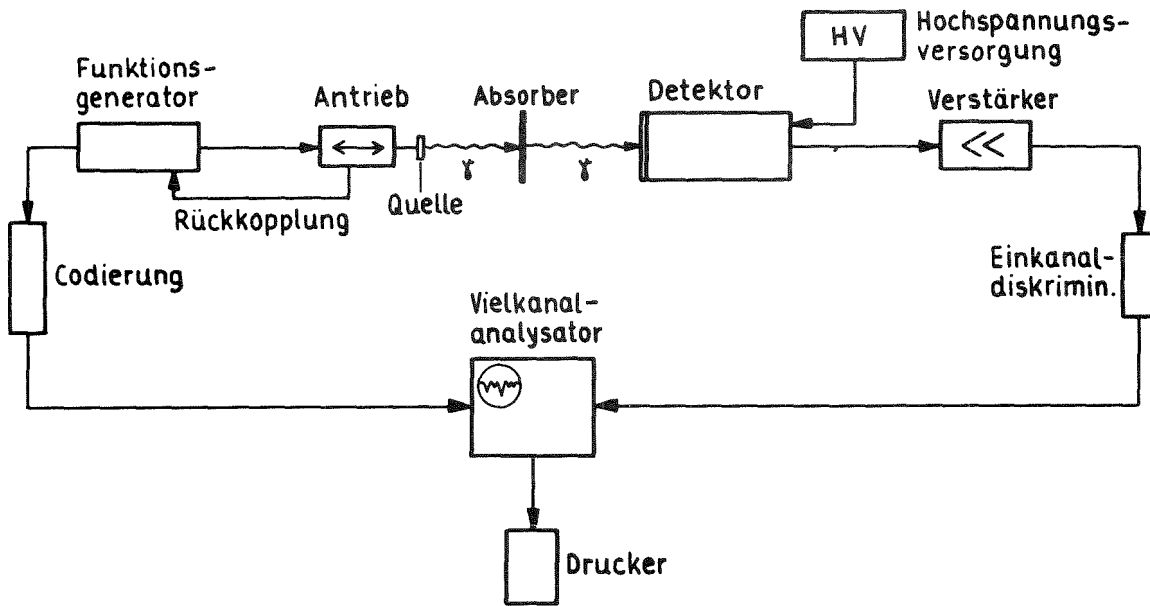


Fig. 4: Blockschaltbild des Mößbauerspektrometers

### 3.2 Quellen und Absorber

#### a) Quellen

Wie aus dem Zerfallsschema Fig. 1 ersichtlich, wird als Quelle das Isotop  $\text{Te}^{129\text{m}}$  benötigt. Das Isotop besitzt eine günstige Halbwertszeit von 33,6 Tagen. Für die Messungen ist es wichtig, eine Mößbauerquelle zu benutzen, die eine unaufgespaltene Linie von möglichst geringer Breite zeigt. Dies leistet eine Quelle in Form von Zinktellurid.

Bei Lieferung beträgt die Stärke der Quellen ca. 10mCi. Dies ist die maximal mögliche Aktivität für das Nachweissystem. Bei vertretbaren Meßzeiten kann zwei Halbwertszeiten mit einer Quelle gemessen werden.



b) Absorber

Als Absorber dienen jodierte Proben der Aminosäure l-Tyrosin und des Tabak-Mosaik-Virus. Bei l-Tyrosin (Fig. 5) besteht die Möglichkeit, die Wasserstoffatome in Position 3 und 5 am Benzolring gegen Jod auszutauschen.

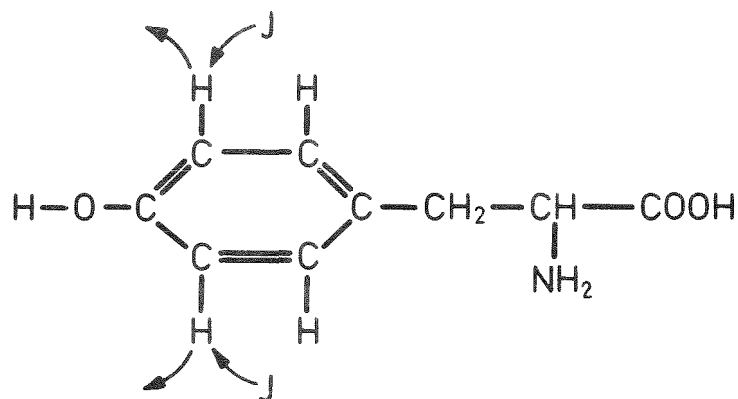


Fig. 5: l-Tyrosin

Diese Positionen sind günstig, da die Mößbaueratome dann in der Nähe der OH-Gruppe gebunden sind. Eine OH-Gruppe ist ein bevorzugter Ansatzpunkt für eine Wasserstoffbrückenbindung. Die Präparation von 3,5-Dijod-l-tyrosin wird nach der in [9] beschriebenen Methode vorgenommen und ist im Anhang eingehend erläutert. Es sind von l-Tyrosin drei Absorber hergestellt worden und zwar:

- T1: 3,5-Dijod-l-tyrosin, kristallin
- T2: 3,5-Dijod-l-tyrosin, in Lösung pH 2
- T3: 3,5-Dijod-l-tyrosin, in Lösung pH 10.

Reste von Natriumjodid können aus den Präparaten nicht vollständig entfernt werden, was sich in einer zusätzlichen unaufgespaltenen Linie im Spektrum äußert.

Das Tabak-Mosaik-Virus ist aus einer einsträngigen Ribonukleinsäure (RNS) und einem Proteinhülle auf-gebaut (Fig. 6). Das Molekulargewicht beträgt ca. 40 Millionen. Der Proteinhülle besteht aus vielen Untereinheiten, die in der Figur als schuhförmige Gebilde dargestellt sind. Die RNS liegt in den Einschnürungen dieser Untereinheiten [4].

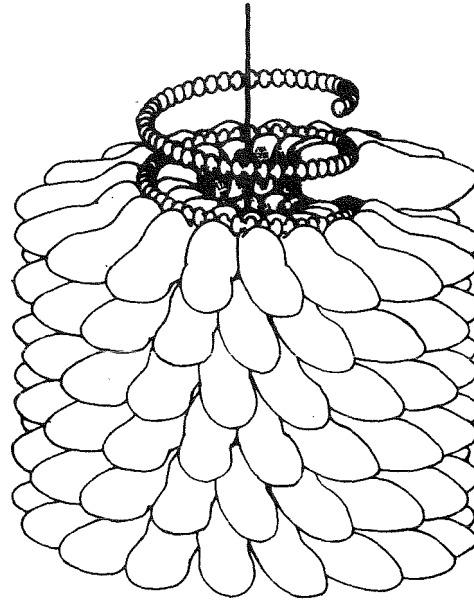


Fig.6: Struktur des TMV

Der radiale Aufbau des TMV-Moleküls lässt sich aus Fig. 7 entnehmen, die die Elektronendichte in Abhängigkeit vom Radius wiedergibt.

Die maximale radiale Ausdehnung einer Untereinheit beträgt  $90 \text{ \AA}$ ; die RNS befindet sich bei ca.  $40 \text{ \AA}$ ; in der Mitte des Moleküls ist eine axiale Öffnung von  $20 \text{ \AA}$  Radius.

Die Untereinheiten des Proteinhülle weisen in sich eine einheitliche Struktur auf. Eine Untereinheit ist aus 158 Aminosäuren in definierter Reihenfolge aufgebaut und hat ein Molekulargewicht von ca. 17 800 [11,12]. Die Aminosäuren

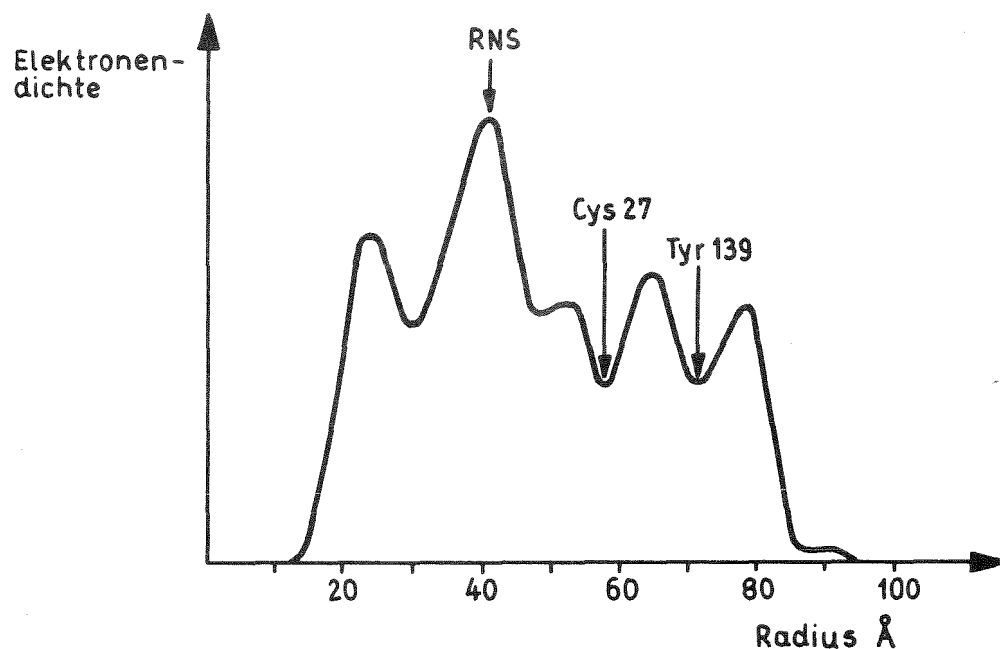


Fig. 7: Radiale Elektronendichte des TMV-Moleküls  
[10]

sind untereinander durch eine "Peptid-Bindung" verknüpft, d.h. die Aminogruppe eines Aminosäuremoleküls kondensiert mit der Carboxylgruppe eines anderen Säuremoleküls (Fig. 8; es ist die allgemeine Formel einer Aminosäure angegeben, für R steht ein von der Art der Aminosäure abhängiger Rest).

Durch fortgesetzte Kondensation vieler Aminosäuren entstehen dann die genannten Kettenmoleküle ("Polypeptid-Ketten").

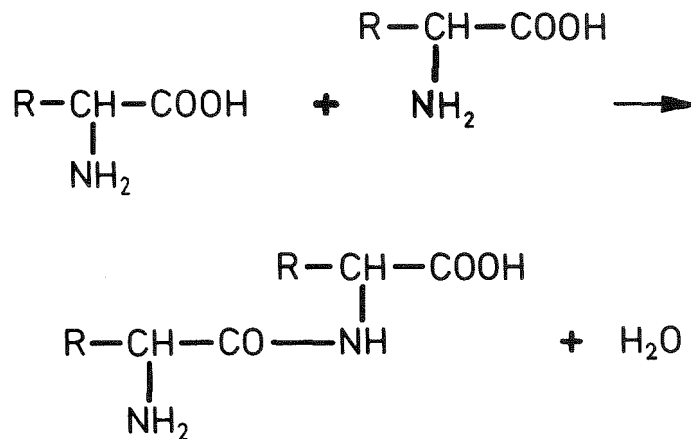


Fig. 8: Kondensation zweier Aminosäuremoleküle

Unter den 158 Aminosäuren einer Untereinheit befinden sich vier Moleküle der Aminosäuren l-Tyrosin und ein Molekül Cystein. Die vier Moleküle Tyrosin im TMV lassen sich selektiv jodieren, da die einzelnen Moleküle aufgrund ihrer Position im intakten Virus stark unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten zeigen. Dabei reagiert Tyrosin 139 – die Nummern bezeichnen die Position des Moleküls in der Aminosäurekette – bei 20°C vor allen Tyrosinmolekülen mit Jod, d.h. wenn zwei Atome Jod pro Untereinheit angeboten werden, wird nur dieses Molekül jodiert [7]. Erschwerend kommt allerdings hinzu, daß Cystein 27 ebenfalls sofort mit Jod reagiert (Fig. 9). Das Mößbauerspektrum des jodierten Cysteins ist am freien Molekül nicht beobachtbar, da die Schwefel-Jod-Bindung instabil ist. Das TMV bietet jedoch eine Möglichkeit, das Cystein-Spektrum neben dem Tyrosin-Spektrum zu messen. Die Schwefel-Jod-Bindung wird im TMV durch die umgebenden Moleküle stabilisiert.

Zur Gewinnung von Absorbern, bei denen nur Tyrosin 139 jodiert ist, muß die Sulphydrylgruppe des Cysteins chemisch blockiert werden. Dazu wird das TMV-Molekül mit Methylquecksilbernitrat ( $\text{CH}_3\text{HgNO}_3$ ) versetzt, das mit Cystein unter Bildung einer stabilen Schwefel-Quecksilber-Bindung reagiert (Fig. 9) [7].

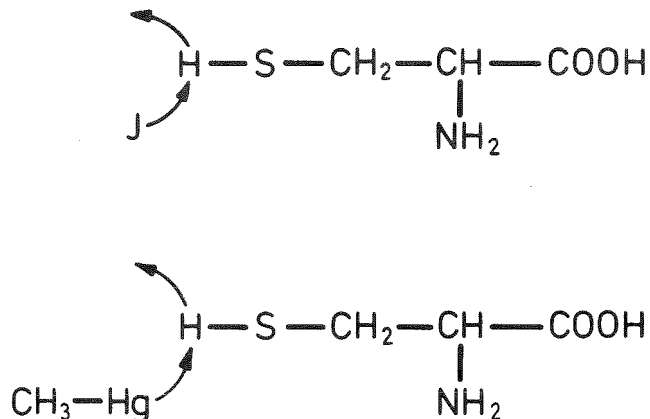


Fig. 9: Cystein (Reaktion mit Jod; Reaktion mit  $\text{CH}_3\text{HgNO}_3$ )

Nach dem im Anhang erläuterten Verfahren sind folgende Proben hergestellt worden:

- V1: TMV-Lösung, Tyrosin 139 und Cystein 27 jodiert, pH 8
- V2: TMV-Lösung, Tyrosin 139 jodiert, pH 8
- V3: TMV-Lösung, Tyrosin 139 jodiert, anschließend pH 8 auf pH 3 geändert.

### 3.3 Messung und Auswertung

Die Spektren der verschiedenen Absorber werden in einem Vielkanalanalysator aufgezeichnet. Die Meßzeit für ein Spektrum beträgt je nach Stärke der Quelle zwischen zwei und acht Tagen. Die gezählten Impulse pro Kanal und Spektrum liegen bei einigen Millionen. Die Daten werden auf Lochstreifen ausgegeben und an der Rechenanlage des Kernforschungszentrums weiter verarbeitet.

Da zur Bestimmung der Mößbauerparameter jedem Meßpunkt die absolute Dopplergeschwindigkeit zugeordnet sein muß, werden die Spektren mit Hilfe zweier Verfahren geeicht. Bei den zuerst gemessenen Spektren ist dies mit Fe<sup>57</sup>-Mößbauerspektren durchgeführt worden. Aus der Lage der Linien im Referenzspektrum ergibt sich mit den bekannten Aufspaltungsparametern für die magnetische Hyperfeinstruktur bei Eisen eine Zuordnung zwischen Kanalzahl und Geschwindigkeit. Bei den neuesten Messungen wird die Absoluteichung der Spektren durch eine direkte Bestimmung der Geschwindigkeit mit einem Laser-Interferometer vorgenommen. Beide Eichverfahren werden im Anhang ausführlich dargestellt.

Beim Durchlaufen eines Meßzyklus ist der Ort der Quelle entlang der Achse bei konstanter Beschleunigung eine parabolische Funktion der Zeit. Die dadurch hervorgerufene Raumwinkeländerung bedingt eine dem Mößbauerspektrum überlagerte Zählratenänderung. Dieser Effekt wird mit einer Strahlung, die keine Resonanzabsorption zeigt, gemessen und bei der Auswertung berücksichtigt.

Um die Mößbauerparameter aus den geeichten und korrigierten Spektren zu gewinnen, wird in einem FORTRAN-IV-Programm die theoretische Quadrupolaufspaltung an die

Meßpunkte angepaßt. Mögliche Abweichungen des elektrischen Feldgradienten von der Rotationssymmetrie werden nach dem Verfahren von Shenoy und Dunlap in das Programm eingebracht [13].

Der Hamiltonoperator für die Wechselwirkung eines Kernquadrupolmomentes  $Q$  mit dem elektrischen Feldgradienten am Kernort kann geschrieben werden als

$$H_Q = \{e Q V_{zz} / [4I(2I - 1)]\} \times \\ \times \{3 \hat{I}_z^2 - \hat{I}^2 + \frac{1}{2} \eta (\hat{I}_+^2 + \hat{I}_-^2)\} \quad (2)$$

$$\text{mit} \quad \eta = (V_{yy} - V_{xx}) / V_{zz} \quad (3)$$

$I$  ist der Kernspin,  $V_{\ell\ell}$  ist der elektrische Feldgradient in Richtung  $\ell$ ,  $\hat{I}$ ,  $\hat{I}_z$ ,  $\hat{I}_+$  und  $\hat{I}_-$  sind die Drehimpulsoperatoren. Der Hamiltonoperator ist nur diagonal in  $\hat{I}_z$ , wenn der elektrische Feldgradient rotations-symmetrisch ist, d.h.  $V_{xx} = V_{yy}$ .

Um im Anpassungsprogramm die jeweils notwendige Diagonalisierung des Hamiltonoperators bei Änderung von  $\eta$  zur Gewinnung von Eigenwerten und Eigenvektoren zu vermeiden, wird die Energie eines Zustandes in eine Potenzreihe in  $\eta$  entwickelt.

$$E(I,m) = e Q V_{zz} \cdot P(I,m) \quad (4)$$

wobei

$$P(I,m) = \sum_{\nu=0}^4 a_{\nu}(I,m) \cdot \eta^{\nu} \quad (5)$$

I ist der Kernspin, m die z-Komponente, die nur dann eine gute Quantenzahl ist, wenn  $\eta = 0$  ist. Die Koeffizienten  $a_{\nu}(I,m)$  sind in [13] tabelliert. Die nach diesem Verfahren gewonnenen Werte für die Energien der Zustände weichen um weniger als 0,5% von den Eigenwerten des sehr rechenzeitaufwendigen Diagonalisierungsverfahrens ab.

Die Resonanzenergie läßt sich angeben zu

$$R(I',m'; I,m) = e V_{zz} [Q' \cdot P(I',m') - Q \cdot P(I,m)] + \delta \quad (6)$$

wobei Q und Q' die Quadrupolmomente von Grund- und angeregtem Zustand sind.  $\delta$  ist die Isomerieverschiebung. Die Änderung der Übergangsenergie wird durch die unterschiedliche Aufenthaltswahrscheinlichkeit der s-Elektronen am Kern des Mößbaueratoms in Quelle und Absorber hervorgerufen. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit wiederum wird von der chemischen Bindung des Atoms beeinflusst, d.h. sind Quelle und Absorber chemisch gleich aufgebaut, verschwindet die Isomerieverschiebung. Da bei den durchgeführten Messungen das Mößbaueratom in Quelle und Absorber unterschiedlich gebunden ist, ist die Isomerieverschiebung hier eine wesentliche Meßgröße.

Die Intensität einer Resonanzlinie ist durch die Eigenvektoren der zwei Hamiltonoperatoren und die Multipolarität der Strahlung zwischen den Zuständen bestimmt. Zur Vereinfachung des Programms wird die Intensität A ebenfalls in eine Potenzreihe in  $\eta$  entwickelt

$$A(I',m'; I,m) = \sum_{\nu=0}^4 b_{\nu}(I',m'; I,m) \cdot \eta^{\nu} \quad (7)$$

Die Koeffizienten  $b_{\nu}(I',m'; I,m)$  sind für den Übergang  $5/2^+ \rightarrow 7/2^+$  in [13] tabelliert.



Als weiterer Parameter wird die sogenannte "rückstoßfreie Absorptionsanisotropie"  $\chi$  eingeführt. Er ist gleich dem Verhältnis der auf die Clebsch-Gordan-Koeffizienten normalisierten Intensitäten für  $\Delta m = \pm 1$  und  $\Delta m = 0$  Übergänge. Ursache für die Anisotropie in einem polykristallinen Absorber ist der anisotrope Debye-Waller-Faktor ("Goldanskii-Karyagin-Effekt") [14,15].

Die Mößbauerlinien haben die natürliche Form und sind nur geringfügig verbreitert. Deshalb werden Lorentz-Funktionen für den Ausgleich der Meßwerte verwendet.

Nach dem Prinzip der kleinsten Fehlerquadrate bestimmt das Programm die Bestwerte der folgenden Parameter

- $e Q_{gr} V_{zz}$  - elektrische Quadrupolaufspaltung des Grundzustandes
- $\eta$  - Asymmetrieparameter
- $\delta$  - Isomerieverschiebung gegen die  $ZnTe^{129m}$ -Quelle
- $\chi$  - rückstoßfreie Absorptionsanisotropie
- $\Gamma$  - Breite der Linien in halber Höhe
- $N_0$  - Normierung der Linienintensitäten
- $N_\infty$  - Intensität bei völliger Resonanzverstimmung.

Bei den Spektren von l-Tyrosin kommen drei weitere Parameter für die zusätzlich auftretende Jodid-Linie hinzu:

- $N_J$  - Intensität dieser Linie
- $\Gamma_J$  - Breite der Linie
- $\delta_J$  - Isomerieverschiebung der Jodid-Linie gegen die  $ZnTe^{129m}$ -Quelle.

Im Spektrum des Absorbers V1 (TMV, Tyrosin und Cystein jodiert) sind zwei Quadrupolspektren überlagert. Die Trennung dieser Spektren verläuft im Anpassungsprogramm ohne Schwierigkeiten.

In den Figuren 10 - 13 sind die Meßwerte und die angepaßten Kurven für vier Absorber wiedergegeben.

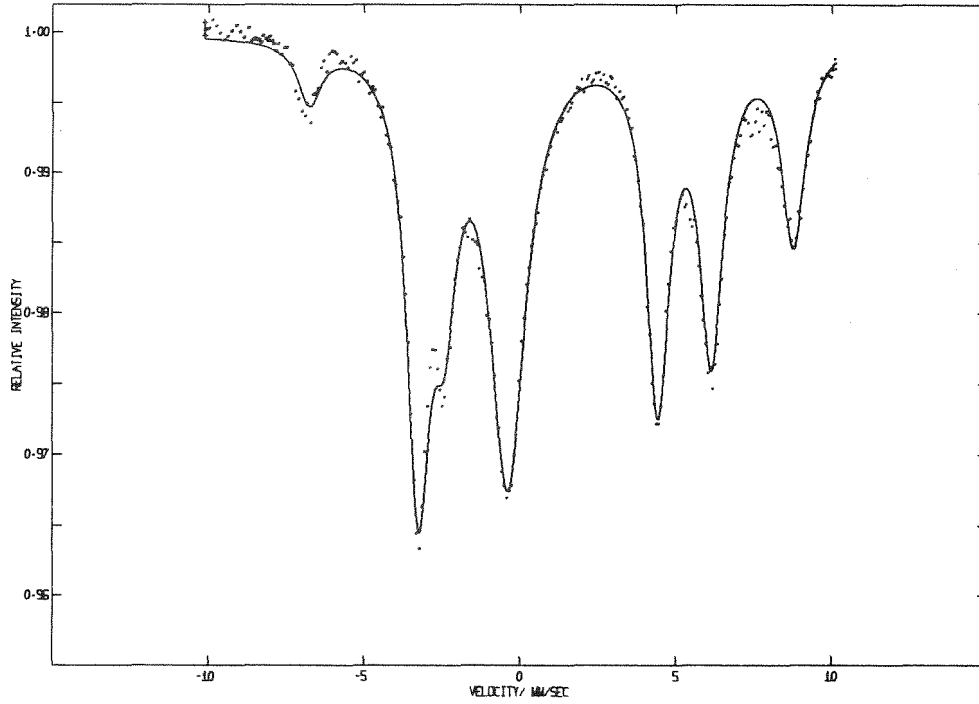


Fig. 10: T2: 3,5-Dijod-l-tyrosin, in Lösung pH 2

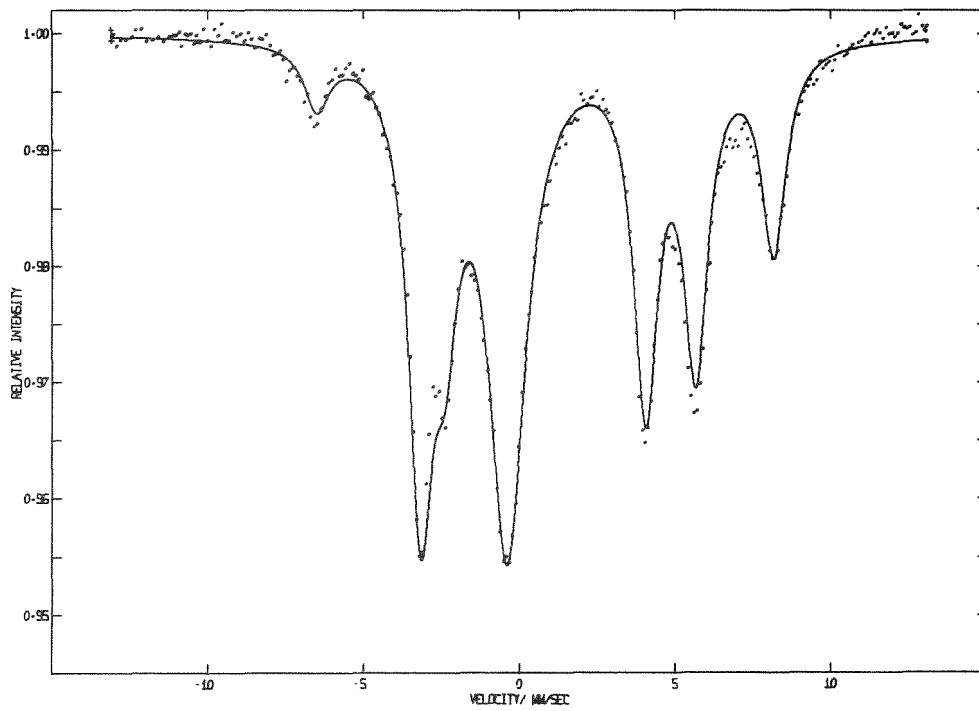


Fig. 11: T3: 3,5 Dijod-l-tyrosin, in Lösung pH 10

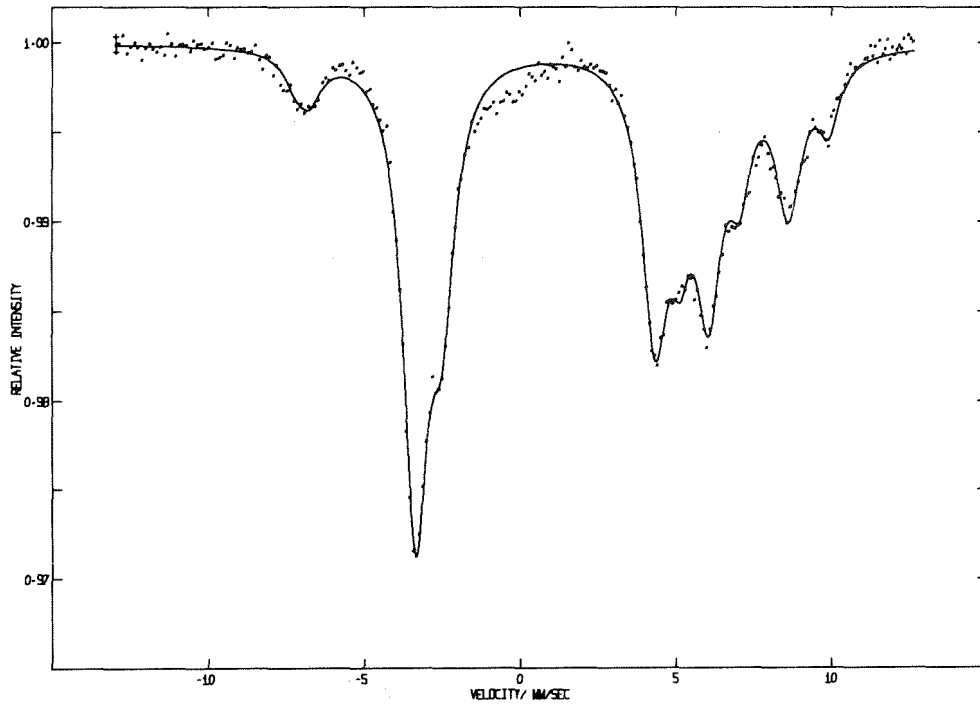


Fig. 12: V1: TMV, Tyrosin und Cystein jodiert, pH 8

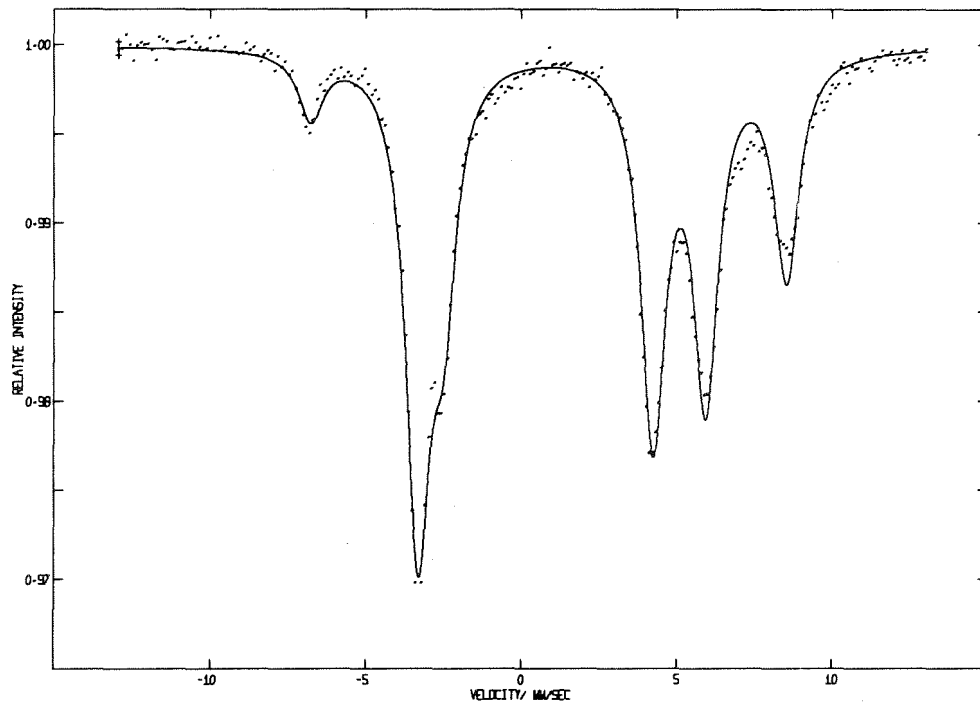


Fig. 13: V2: TMV, Tyrosin jodiert, pH 8.

### 3.4 Ergebnisse

Die aus dem Anpassungsprogramm gewonnenen Parameter sind für alle Messungen in Tab. I zusammengestellt.

Absorber	$-eQ_{gr} V_{zz}$ [MHz]	$\delta$ [mm/sec]	$\Gamma$ [mm/sec]	$\eta$	$\chi$
T1	1339±10	0,30±0,03	0,96±0,02	0,05±0,02	0,91±0,04
T2	1350±10	0,30±0,03	0,91±0,02	0,05±0,01	0,95±0,04
T3	1268±10	0,16±0,03	0,96±0,02	0,07±0,01	0,93±0,04
V1 Tyrosin Cystein	1344±13	0,17±0,03	0,96±0,04	0,03±0,03	0,98±0,05
	1488±15	0,54±0,06	0,95±0,06	0,04±0,04	1,04±0,08
V2	1323±10	0,17±0,03	0,98±0,02	0,06±0,01	0,94±0,04
V3	1342±10	0,20±0,03	0,92±0,02	0,07±0,02	0,98±0,04
DIT [16]	1367±15	0,30±0,03	0,82±0,08	0,07±0,03	0,93±0,07
RSI [17]	1510±15	0,41±0,02	0,82±0,04	0,07±0,03	—

Tab. I: Ergebnisse für die Mößbauerparameter aus Messungen an einer Reihe verschiedener Resonanzabsorber (Erläuterung der Bezeichnung siehe Text)

Zum Vergleich sind in der Tabelle I zwei Messungen aus der Literatur aufgeführt. Bei DIT handelt es sich um einen Absorber aus kristallinem 3,5-Dijod-l-tyrosin vergleichbar dem Absorber T1. RSI bezeichnet die Verbindung N-p-Chlorophenyl-2-(benzyloxycarbonamido)-3-jodothio-3-Methylbutanamid (Fig. 14). Dieser Absorber kann als Modellsubstanz mit einer Schwefel-Jod-Bindung aufgefaßt werden, wie sie beim jodierten Cystein im Präparat V1 vorliegt.

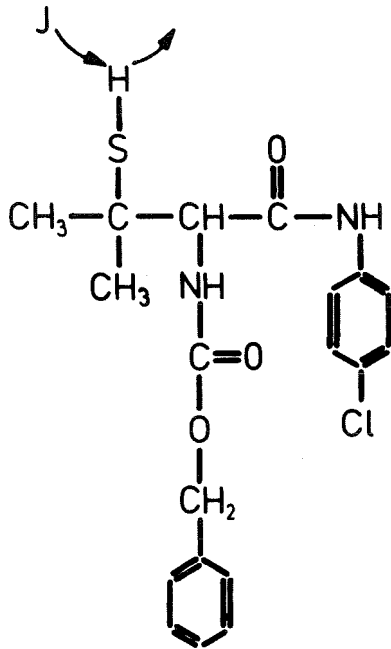


Fig. 14: Strukturformel RSI

Aus den Messungen mit den Absorbern T1, T2 und T3 wird die Isomeriever-  
schiebung der Jodid-Linie  
relativ zur Zinktellurid-  
Quelle zu  $\delta_J = -0,39 \pm 0,02$   
mm/sec bestimmt. Die Breite  
dieser Linie beträgt  
 $\Gamma_J = 1,39 \pm 0,03$  mm/sec.  
Das Intensitätsverhältnis  
der Spektren von jodiertem  
Cystein zu jodiertem  
Tyrosin im Absorber V1 er-  
gibt sich zu  $0,47 \pm 0,04$ .  
Dieser Wert entspricht  
dem stöchiometrischen  
Verhältnis von 0,5 des an  
Cystein bzw. Tyrosin ge-  
bundenen Jods, d.h. die  
beiden Aminosäuren sind  
vollständig jodiert.

#### 4. Diskussion der Ergebnisse

Die wesentlichen Parameter zur Unterscheidung der verschiedenen Absorber sind elektrische Quadrupolaufspaltung  $eQV_{zz}$  und Isomerieverschiebung  $\delta$ .

Die Messungen am freien Tyrosinmolekül sind durchgeführt worden, um die Einflüsse unterschiedlicher chemischer Bindungen in der Nähe der Resonatoratome auf die Parameter zu erfassen. Das 3,5-Dijod-l-tyrosin kann in Abhängigkeit vom pH-Wert der Lösung in zwei Zuständen vorliegen:

Das Proton der Hydroxylgruppe ist gebunden (I), oder die Gruppe ist dissoziiert (II) (Fig. 15).

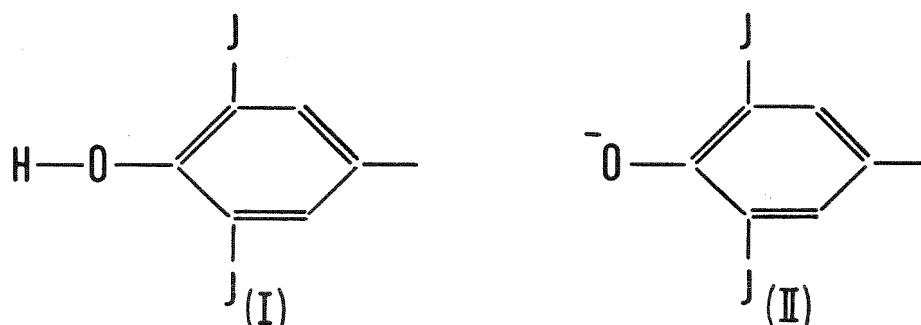


Fig. 15: Zustände des Tyrosins bezüglich der Hydroxylgruppe

Dabei wird von Änderungen an der Carboxyl- bzw. Aminogruppe des Moleküls abgesehen, da diese Gruppen räumlich weit vom Ort der Mößbaueratome entfernt sind.

Der pH-Wert, bei dem beide Konfigurationen im Verhältnis 1:1 in der Lösung vorhanden sind, wird pK-Wert der Hydroxylgruppe des Moleküls genannt. Der pK-Wert ist am freien

Tyrosinmolekül auf chemischem Wege einfach zu bestimmen und liegt für die Verbindung 3,5-Dijod-l-tyrosin bei 7 [18]. Die Zuordnung einer bestimmten Konfiguration zu einem pH-Wert ist eindeutig. Bei pH 2 ist allein Zustand I ( $10^5:1$ ), bei pH 10 Zustand II ( $10^3:1$ ) in Lösung (der pH-Wert ist ein logarithmisches Maß für Konzentrationen). Damit ergibt sich, daß die Mößbauerparameter Quadrupolaufspaltung und Isomerieverschiebung der Absorber T2 (pH 2) und T3 (pH 10) charakteristisch für die beiden Zustände des Moleküls sind.

Die Übereinstimmung der Parameter des kristallinen Tyrosins (T1) mit denen von Absorber T2 (pH 2) ist in diesem Bild erklärbar. Das Molekül liegt im kristallinen Präparat protoniert, d.h. im Zustand I, vor. Die Messung von Groves u.a. [16] am kristallinen Tyrosin (DIT) bestätigt die Werte für die Mößbauerparameter des Absorbers T1. In den Spektren T1, T2 und T3 tritt zusätzlich eine unaufgespaltene Linie bei  $\nu = -0,39 \pm 0,02$  mm/sec auf. Die Isomerieverschiebung dieser Linie ist typisch für Jodide [2].

Beim TMV besteht die Vermutung, daß eine Wasserstoffbrücke am Tyrosin 139 mitverantwortlich für die helikale Quartär-Struktur des Virus ist [19]. Da eine Wasserstoffbrücke den pK-Wert eines Moleküls ändert, kommt der Bestimmung dieses Wertes beim Tyrosin im TMV entscheidende Bedeutung zu. Die chemische Untersuchungsmethode ist aufgrund vieler OH-Gruppen im Protein nicht selektiv. Die Untersuchungen mit Hilfe des Mößbauereffekts bieten hier einen Ausweg, da die Plätze der Resonatoratome eindeutig definiert sind.



Aus den Mößbauerparametern ergeben sich über den Vergleich der Spektren von Tyrosin im TMV (V2 : pH 8; V3 : pH 3) mit den Spektren des freien Tyrosinmoleküls (T2 : pH 2; T3 : pH 10) folgende Aussagen:

1. Das Tyrosin im TMV liegt bei pH 8 nicht als Anion, d.h. nicht im Zustand II, vor; der pK-Wert der Hydroxylgruppe des Jod-Tyrosins 139 im TMV ist gegenüber dem freien Jod-Tyrosin erhöht.
2. Die Ergebnisse der Messung bei pH 3 (V3) bestätigen nicht den vermuteten protonierten Zustand I des Moleküls.

Beim Aufbau des TMV muß eine Änderung an der OH-Gruppe des Tyrosins 139 erfolgen, die nicht mit den beiden Grenzkonfigurationen I und II zu beschreiben ist.

Das Auftreten einer Wasserstoffbrücke an der Hydroxylgruppe des Tyrosinmoleküls im TMV erklärt die genannten Punkte. Zur Sicherung dieser Schlußfolgerung sind weitere Messungen bei höheren pH-Werten in Vorbereitung. Sie sollen zeigen, ob das Aufbrechen dieser Wasserstoffbrücke mit dem Zerfall der helikalen Struktur des Virus bei höheren pH-Werten in Beziehung steht.

Neben diesen Ergebnissen ist mit der Messung am Absorber V1 (Tyrosin und Cystein jodiert) das erste Mößbauerspektrum einer stabilen Sulfenyl-Jodid-Bindung am Cystein aufgenommen worden. Dies bestätigt die Vermutung, daß die sonst instabile Bindung am Cystein im TMV stabil vorliegt [6]. Es kann damit mit Sicherheit eine Disulfidbrücke am Cystein, wie sie bei anderen biologischen Verbindungen auftritt, ausgeschlossen werden.

Die Mößbauerparameter des Cysteinspektrums stimmen mit denjenigen überein, die von Potasek [17] am Sulfenyljodid der Verbindung RSI gefunden worden sind.

Als weitere Größe ist aus den Messungen der Asymmetrieparameter  $\eta$  gewonnen worden. Sein numerischer Wert ist bei allen Spektren nur wenig von 0 verschieden: Dies bedeutet bei allen Absorbern eine geringe Abweichung des elektrischen Feldgradienten von der Rotationssymmetrie. Die Verteilung der Bindungselektronen des Jodatoms ist nahezu axialsymmetrisch um die z-Achse im Hauptachsensystem des Tensors des elektrischen Feldgradienten.

Die geringe Abweichung des Parameters  $\chi$  ("rückstoßfreie Absorptionsanisotropie") vom Wert 1 deutet kleine Anisotropien im Debye-Waller-Faktor an.

Über die Untersuchungen mit dem Isotop  $\text{Fe}^{57}$  an biologischen Verbindungen hinaus zeigt die vorliegende Arbeit, daß auch die Beobachtung des Mößbauereffekts an  $\text{J}^{129}$  zur Strukturaufklärung komplexer Proteine geeignet ist. Es sind hier zum erstenmal aufschlußreiche Ergebnisse gewonnen worden. Die Ausdehnung der aufgezeigten Meßmethode auf weitere biologisch interessante Verbindungen wird sich bei deren Strukturbestimmung hilfreich erweisen.

## Anhang

### A. Herstellung der Absorber

#### A.1 Präparation der Jodlösung

Das Isotop  $J^{129}$  ist als Natriumjodid (NaJ) in Wasser erhältlich. Für die Jodierung der Absorber wird eine Lösung von  $J_2$  in NaJ benötigt, d.h. ein Teil des vorhandenen Jodids muß zum elementaren Jod oxydiert werden. In einer Reihe von Vorversuchen mit inaktivem Jod hat sich das folgende Verfahren als zweckmäßig erwiesen:

Eine schwefelsaure NaJ-Lösung wird mit 1/10 n Kaliumpermanganat-Lösung titriert bis alles Jod ausgefallen ist. Der Endpunkt der Reaktion wird am Verschwinden der Jod-Stärke-Färbung der Lösung erkannt. (Übertitration führt zu einer störenden Jodat-Bildung.) Das ausgeschiedene Jod wird filtriert und in einen speziell dafür gebauten Sublimierkolben gegeben. In diesem wird das Jod auf einen mit Methanol auf  $-10^{\circ}\text{C}$  gekühlten Hals übersublimiert. Das so gereinigte Jod wird nun wieder in wässrigem NaJ gelöst. Dies ergibt eine von Verunreinigungen (z.B. Oxydationsmittel) freie Lösung von Jod in NaJ. Die Oxydationsmittelfreiheit ist Bedingung bei der Jodierung von TMV. Bei der Jodierung von Tyrosin ist es erforderlich, mit kleinen Flüssigkeitsmengen (ca. 1 ml) zu arbeiten. Auch hierfür bietet das beschriebene Verfahren die Voraussetzungen. Aus finanziellen Gesichtspunkten wichtig ist die Möglichkeit, durch Absorbermaterialien verunreinigte Reste von vorhergehenden Jodierungen aufzuarbeiten und das erhaltene Jod in neu dazugekauftem NaJ zu lösen.

## A.2 Jodierung von l-Tyrosin

Bei der Jodierung von l-Tyrosin wird unter geringen Änderungen nach der in [9] beschriebenen Methode vorgegangen.

50 mg l-Tyrosin werden in 0,5 ml 20% Äthylamin gelöst. Dazu wird eine Lösung von 160 mg  $J^{129}$  und 200 mg  $NaJ^{129}$  (ca. 0,7 ml) getropft und 30 min gerührt. Das entstandene 3,5-Dijod-l-tyrosin wird mit Essigsäure (pH 4,5) gefällt, filtriert, gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute ist stark konzentrationsabhängig und beträgt in diesem Fall ca. 30%, d.h. 39 mg 3,5-Dijod-l-tyrosin.

Ein Drittel der Substanz wird in eine Plexiglasschraubfassung eingebracht. Die Fassung wird dicht zugeklebt (Absorber T1). Der Rest wird in Ammoniak (pH 10) gelöst, geteilt und eine Hälfte mit Salzsäure auf pH 2 eingestellt. Auch diese beiden Lösungen werden in Plexiglasschraubfassungen eingefüllt und verklebt (Absorber T2 und T3). Jeder Absorber enthält, von Verlusten beim Umfüllen abgesehen, ca. 13 mg 3,5-Dijod-l-tyrosin, was bei einer wirksamen Fläche von  $1 \text{ cm}^2$  einer Massenbelegung von  $8 \text{ mg } J^{129}/\text{cm}^2$  entspricht.

## A.3 Jodierung des Tabak-Mosaik-Virus

Der Absorber V1 (Tyrosin und Cystein im TMV jodiert) wird nach folgendem Verfahren hergestellt:

Zu  $20 \text{ } \mu\text{mol} \hat{=} 360 \text{ mg}$  TMV in Pufferlösung pH 8 wird eine Lösung von  $120 \text{ } \mu\text{mol} \hat{=} 15,5 \text{ mg } J^{129}$  in  $19,4 \text{ mg } NaJ^{129}$  langsam zugegeben. Die Reaktion zeigt sich sofort an der Entfärbung der Jod-Lösung. Die erhaltene Suspension wird bei

40 000 U/min 90 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wird abgeschüttet, das TMV-Gel mit Pufferlösung pH 8 aufgeschlämmt, 24 Stunden stehengelassen und wieder zentrifugiert. Das Verfahren wird zweimal wiederholt, um Jodid-Reste vollständig zu entfernen. Das TMV wird dann in eine Plexiglasfassung eingebracht und verklebt. Bei 10% Verlust ergibt dies einen Absorber mit ca. 7 mg  $J^{129}/cm^2$ .

Zur Präparation der Absorber V2 und V3 (nur Tyrosin jodiert) muß die Sulfhydrylgruppe des Cysteins mit Methylquecksilberniträt blockiert werden. Dazu wird pro Virus-Untereinheit 1,1 Äquivalente  $CH_3HgNO_3$  in die Lösung gegeben und 24 Stunden gerührt.

30  $\mu$ mol des so behandelten TMV werden mit 120  $\mu$ mol  $J^{129}$  in  $NaJ^{129}$  versetzt. Das weitere Vorgehen ist beim Absorber V1 beschrieben. Es ergibt sich wiederum ein Präparat mit ca. 7 mg  $J^{129}/cm^2$  (Absorber V2). Beim dritten Absorber wird nach dem letzten Zentrifugieren der pH-Wert durch erneutes Aufschlämmen in einer pH 3-Pufferlösung abgeändert (V3).

## B. Eichmessungen

### B.1 Geschwindigkeitseichung mit Hilfe von Referenzspektren

Die Versuchsanordnung (Fig. 3) wird zur Messung der  $\text{Fe}^{57}$ -Mössbauerspektren erweitert (Fig. 16). Die Antriebsstange des elektromagnetischen Schwingsystems ist am unteren Ende starr mit der  $\text{ZnTe}^{129\text{m}}$ -Quelle im Kryostaten verbunden. Am oberen Ende werden die Eichquellen montiert. Damit ist sichergestellt, daß Meß- und Eichquelle die gleiche Bewegung ausführen. Die geometrische Anordnung von Quelle, Absorber, Kollimator und Zählrohr wird dem Aufbau zur Messung der  $\text{J}^{129}$ -Mössbauerspektren angepaßt. Zu jeder Messung parallel werden nacheinander zwei Eichspektren aufgenommen. Als Quellen und Absorber dienen:

	Eichspektrum 1:	Eichspektrum 2:
Quelle:	$\text{Co}^{57}$ in Platinmatrix	$\text{Co}^{57}$ in Eisenmatrix
Absorber:	12 $\mu$ Natureisen und Platinfolie mit 40 $\mu\text{g}$ $\text{Fe}^{57}/\text{cm}^2$	12 $\mu$ Natureisen
Linien:	7	15 (13 aufgelöst)

Die Aufzeichnung solcher  $\text{Fe}^{57}$ -Mössbauerspektren ist in [20] eingehend dargestellt. Hier ist auch das Auswerteverfahren erläutert. Als Parameter ergeben sich unter anderen die Lage der Linien als Kanalzahlen. Mit den bekannten Werten für die magnetische Hyperfeinstrukturaufspaltung bei  $\text{Fe}^{57}$  [21] läßt sich die Kanalzahl in eine Geschwindigkeit umrechnen. Damit ist eine eindeutige Zuordnung hergestellt, mit der die Jodspektren geeicht werden können.

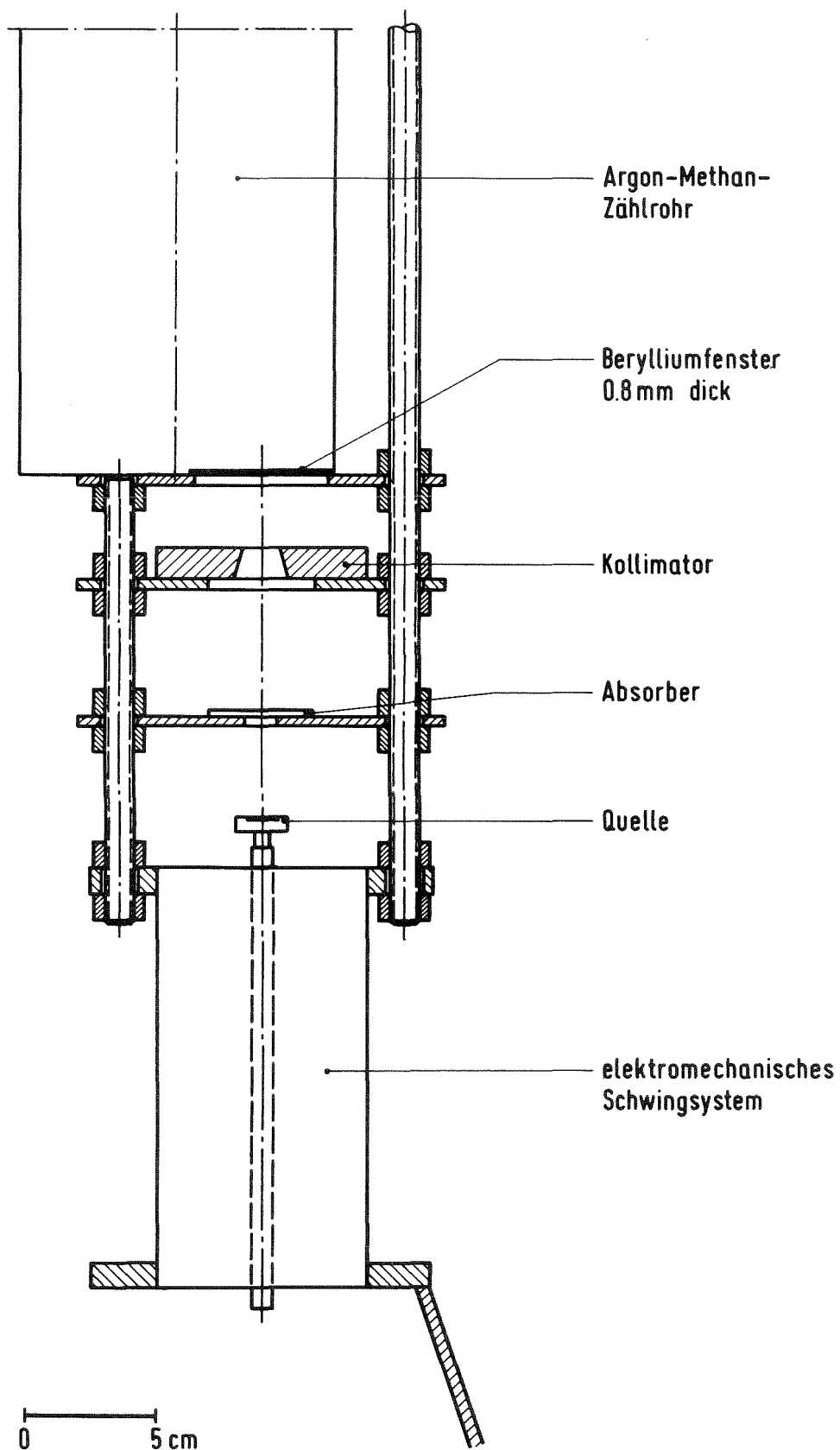


Fig. 16: Versuchsaufbau zur Messung der Eichspektren

## B.2 Eichung von Spektren mit einem Laser-Interferometer

Das sehr aufwendige Verfahren die Eichung mit Referenzspektren durchzuführen, ist bei den letzten Messungen durch eine absolute Geschwindigkeitsbestimmung mit einem Laser-Interferometer ersetzt worden. Durch die stark erhöhte Zahl von Eichpunkten werden auch kleinere Unlinearitäten im Geschwindigkeitsverlauf erfaßt.

In Fig. 17 ist der prinzipielle Aufbau des Interferometers schematisch dargestellt.

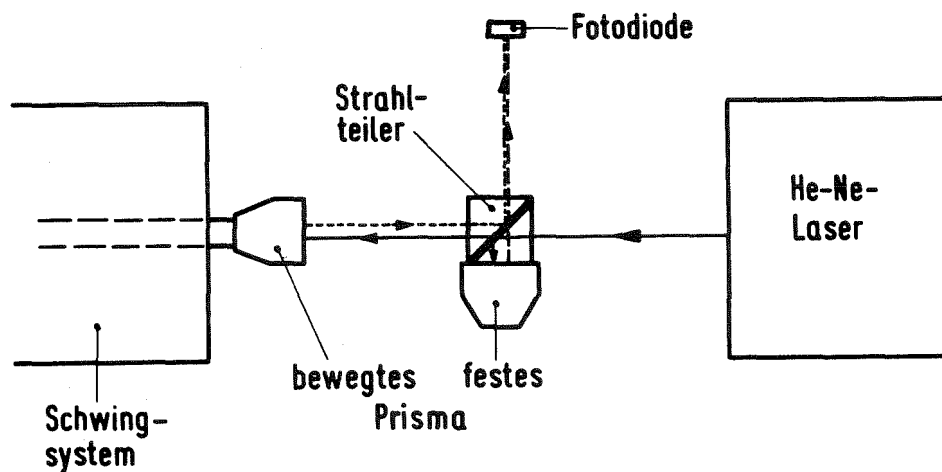


Fig. 17: Laser-Interferometer

An die Stelle der Eichquelle in Abschnitt B.1 tritt das "bewegte Prisma".



Die Überlagerung zweier in Frequenz und Amplitude gleicher Wellen

$$A_1 = A_0 \cdot \sin(k \cdot x - \omega t - \phi) \quad (8)$$

$$A_2 = A_0 \cdot \sin(k \cdot x - \omega t) \quad (9)$$

ergibt bei einer Phasendifferenz  $\phi$  zwischen beiden

$$A = A_1 + A_2 = 2A_0 \cdot \cos\phi/2 \cdot \sin(k \cdot x - \omega t - \phi/2) \quad (10)$$

D.h. die Summe stellt eine Welle mit gleicher Frequenz  $\omega$  dar, deren Amplitude mit  $\cos\phi/2$  moduliert ist. Maximale Amplitude liegt vor, wenn  $\phi = 2n\pi$  ( $n = 0, 1, 2, \dots$ ) ist, und die Amplitude null, wenn  $\phi = 2(n + \frac{1}{2}) \cdot \pi$  ( $n = 0, 1, 2, \dots$ ). Da die Fotodiode die Intensität, die dem Quadrat der Amplitude proportional ist, registriert, geht der Vorzeichenwechsel von  $\cos\phi/2$  nicht in die Überlegungen ein. Die registrierte Intensität wechselt zwischen 0 und Maximum, wenn  $\phi$  den Winkel  $\pi$  überstreicht.

Die Phasendifferenz  $\phi$  wird vom zurückgelegten Weg der beiden Wellen bestimmt. Der Weg des am festen Prisma reflektierten Strahls ist konstant, der Weg des am beweglichen Prisma reflektierten Strahls hängt von der Stellung des Schwingsystems ab. Bewegt sich das Schwingsystem um  $\lambda/4$ , so ist der Wegunterschied  $\lambda/2$  (Weg wird zweimal zurückgelegt). Da ein Wegunterschied  $\lambda/2$  eine Phasendifferenz  $\phi = \pi$  bedeutet, wechselt die Intensität an der Fotodiode von 0 auf maximal (oder umgekehrt). Die nachgeschaltete Elektronik erzeugt für jeden Nulldurchgang der Intensität (d.h.  $\lambda/2$  Bewegung des Schwingsystems) einen Standardpuls. Die Frequenz dieser Signale ist gegeben durch  $2v/\lambda$ , wenn  $v$  die Geschwindigkeit des Antriebssystems ist.  $\lambda$  ist durch die Wellenlänge des He-Ne-Lasers

bestimmt:  $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ . Die Signale werden wie bei der Messung der Mößbauerspektren in den Vielkanalanalysator einsortiert. Es ergeben sich somit in Abhängigkeit von der Kanalzahl Zählraten, die mit der Geschwindigkeit des Schwingsystems in Beziehung stehen. Fig. 18 zeigt eine Aufnahme vom Bildschirm des Vielkanalanalysators.

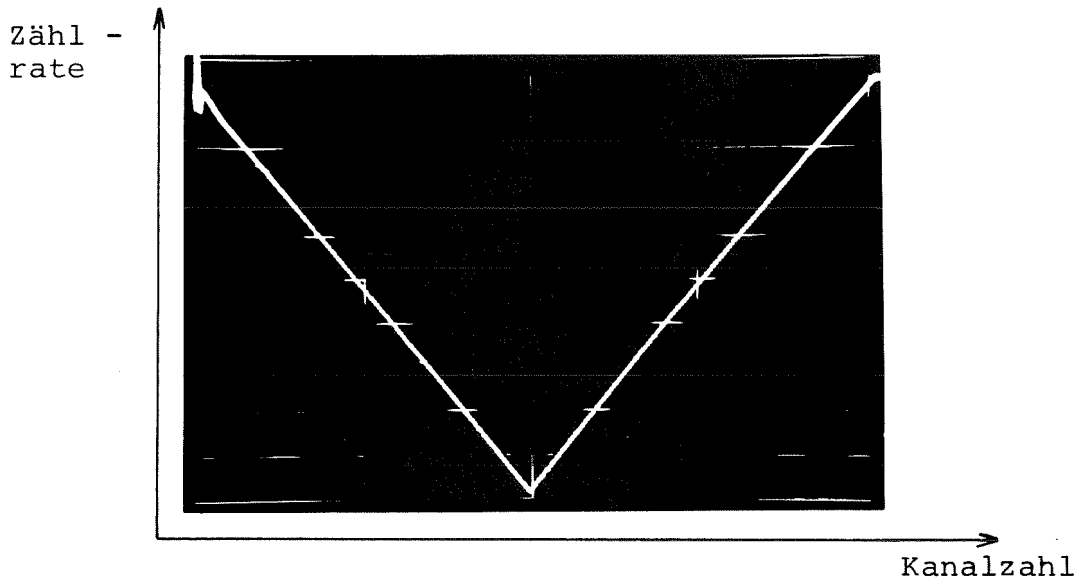


Fig. 18: Geschwindigkeitsspektrum

Die Zählrate  $Z_n$  in Kanal n ist gegeben

$$Z_n = v \cdot m \cdot \Delta t \quad (11)$$

$v$  - Frequenz der erzeugten Signale

$m$  - Anzahl der Meßzyklen im "Multiscaling"-  
Betrieb des Vielkanals

$\Delta t$  - Kanalfortschaltzeit

Mit der Beziehung

$$v = \frac{v \cdot \lambda}{2} \quad (12)$$

folgt für die Geschwindigkeit  $v_n$  bei Kanal  $n$

$$v_n = \frac{Z_n \cdot \lambda}{2 \cdot m \cdot \Delta t} \quad (13)$$

Aus (13) kann für jeden Kanal die Geschwindigkeit berechnet und auf die  $J^{129}$ -Mößbauerspektren übertragen werden.

### B.3 Überprüfung der Eichverfahren

Zur Kontrolle der Eichmessungen wird die  $ZnTe^{129m}$ -Quelle durch eine  $Co^{57}$ -Quelle (Platinmatrix) und die  $J^{129}$ -Absorber durch eine 12  $\mu$  Natureisenfolie ersetzt. Zum Nachweis der 14,4 keV  $\gamma$ -Quanten des Isotops  $Fe^{57}$  wird anstelle des Szintillationszählers ein Proportionalzählrohr verwendet. Die Eisenspektren werden mit Quelle und Absorber auf einer Temperatur von 293 K und 4,2 K aufgenommen und nach den beschriebenen Verfahren geeicht. In einem "Least-squares-fit"-Programm wird an die gemessenen Spektren die theoretische Hyperfeinstrukturaufspaltung bei  $Fe^{57}$  angepaßt. Als Parameter werden variiert: die Intensität der Linien, die Linienbreite und die Aufspaltungsparameter des Grund-  $g_0$  und des angeregten Zustandes  $g_1$ . Die Ergebnisse für  $g_0$  und  $g_1$  sind zusammen mit anderen Messungen in Tabelle II dargestellt. Bei der Messung B.1 (Referenzspektren) ergeben sich im Rahmen der Fehler die der Eichung zugrundegelegten Parameter. Bei B.2 (Laser-Interferometer) handelt es sich um eine unabhängige Bestimmung der Aufspaltungsparameter. Die Ergebnisse sind mit den anderen Messungen verträglich.

	$g_0$ [mm/sec]	$g_1$ [mm/sec]	T [K]
B.2	3,915 ± 0,010	2,239 ± 0,006	293
Cosgrove et al. [22]	3,9110 ± 0,0133	2,2352 ± 0,0133	293
Preston et al. [21]	3,924 ± 0,008	2,244 ± 0,005	293
B.2	4,004 ± 0,016	2,281 ± 0,008	4,2
B.1	4,019 ± 0,011	2,295 ± 0,006	4,2
Preston et al. [21]	4,015 ± 0,008	2,290 ± 0,005	≈ 4,0

Tab. II: Magnetische Hyperfeinstrukturaufspaltung bei  $\text{Fe}^{57}$  in Eisen  
(B.1 Eichung durch Referenzspektren,  
B.2 Eichung mit Laser-Interferometer)

Eine Abschätzung der Genauigkeit der Geschwindigkeits-  
eichung mit Hilfe der beiden Verfahren liefert einen maxi-  
malen Fehler von 0,5%.

## LITERATURVERZEICHNIS

- (1) JOHNSON, C.E.  
IN MOESSBAUER SPECTROSCOPY  
(ED. CONSER, U.; SPRINGER-VERLAG, BERLIN, HEIDELBERG,  
NEW YORK, 1975), 140-166
- (2) HAFEMEISTER, D.W., DE PASQUALI, G. AND DE WAARD, H.  
SOLID STATE AND NUCLEAR RESULTS FROM  
MOESSBAUER STUDIES WITH I129  
PHYS. REV. 135B (1964), 1089-1101
- (3) PASTERNAK, M., SIMOPOULOS, A. AND HAZONY, Y.  
MOESSBAUER EFFECT IN MOLECULAR IODINE CRYSTALS  
PHYS. REV. 140A (1965), 1892-1896
- (4) CASPAR, D.L.D. AND HOLMES, K.C.  
STRUCTURE OF DAHLEMENSE STRAIN OF TOBACCO MOSAIC  
VIRUS: A PERIODICALLY DEFORMED HELIX  
J. MOL. BIOL. 46 (1969), 99-133
- (5) HOLMES, K.C., STUBBS, G.J., MANDELKOW, E.  
AND GALLWITZ, U.  
STRUCTURE OF TOBACCO MOSAIC VIRUS AT 6.7Å RESOLUTION  
NATURE 254 (1975), 192-196
- (6) FRAENKEL-CONRAT, H.  
THE REACTION OF TOBACCO MOSAIC VIRUS WITH IODINE  
J. BIOL. CHEM. 217 (1955), 373-381
- (7) FRAENKEL-CONRAT, H. AND SHERWOOD, M.  
REACTIVITY OF TYROSINE RESIDUES OF TOBACCO  
MOSAIC VIRUS PROTEIN WITH IODINE  
ARCH. BIOCHEM. BIOPHYS. 120 (1967), 571-577
- (8) HOREN, D.J.  
NUCLEAR DATA SHEETS FOR A=129  
NUCLEAR DATA SHEETS B8 (1972), 128
- (9) BARNES, J.H., BORROWS, E.T., ELKS, J., HEMS, B.A.  
AND LONG, A.G.  
THE SYNTHESIS OF THYROXINE AND RELATED SUBSTANCES  
PART VII. THE PREPARATION OF DIPHENYL ETHERS  
FROM 3,6-DI-IODOPHENOLS  
J. CHEM. SOC. (1950), 2824-2833

- (10) HOLMES, K.C.  
MAX-PLANCK-INSTITUT FUER MEDIZINISCHE FORSCHUNG,  
ABT. BIOPHYSIK, HEIDELBERG  
PRIVATE MITTEILUNG
- (11) ANDERER, F.A., UHLIG, H., WEBER, E. AND SCHRAMM, G.  
PRIMARY STRUCTURE OF THE PROTEIN OF TOBACCO  
MOSAIC VIRUS  
NATURE 186 (1960), 922-925
- (12) ANDERER, F. A. UND HANDSCHUH, D.  
DIE REIHENFOLGE DER AMINOSAEUREN IM PROTEIN DES  
TABAKMOSAIKVIRUS  
Z. NATURFORSCHG. 17B (1962), 536-543
- (13) SHENDY, G.K. AND DUNLAP, B.D.  
METHOD FOR THE ANALYSIS OF PURE QUADRUPOLE SPECTRA  
IN NUCLEAR GAMMA-RAY RESONANCE  
NUCL. INSTR. METH. 71 (1969), 285-291
- (14) GOLDANSKII, V.I. AND MAKAROV, E.F.  
IN CHEMICAL APPLICATIONS OF MOESSBAUER SPECTROSCOPY  
(EDS. GOLDANSKII, V.I. AND HERBER, R.H.;  
ACADEMIC PRESS, NEW YORK, LONDON, 1968), 102-107
- (15) GOLDANSKII, V.I., MAKAROV, E.F. AND KHRAPOV, V.V.  
ON THE DIFFERENCE IN TWO PEAKS OF QUADRUPOLE  
SPLITTING IN MOESSBAUER SPECTRA  
PHYS. LETT. 3 (1963), 344-346
- (16) GROVES, J.L., POTASEK, M.J. AND DE PASQUALI, G.  
MOESSBAUER EFFECT OF I129 IN L-3,5-DIIODOTYROSINE  
AND L-THYROXINE  
PHYS. LETT. 42A (1973), 493-494
- (17) POTASEK, M.J.  
MOESSBAUER EFFECT OF I129 IN A SULFENYL IODIDE(RSI129)  
PHYS. LETT. 45A (1973), 489-490
- (18) WINNEK, P.S. AND SCHMIDT, C.L.A.  
THE SOLUBILITIES, APPARENT DISSOCIATION CONSTANTS,  
AND THERMODYNAMIC DATA OF THE DIHALOGENATED  
TYROSINE COMPOUNDS  
J. GEN. PHYSIOL. 18 (1935), 889-903

- (19) OKADA, Y., OHNO, T., KURIYAMA, K. AND INOUE, H.  
PARTICIPATION OF THE TYROSINE RESIDUE AT  
POSITION 139 OF TOBACCO MOSAIC VIRUS PROTEIN  
IN THE RECONSTITUTION REACTION  
VIROLOGY 47 (1972), 838-841
- (20) HAFFNER, H.  
UNTERSUCHUNG DES MAGNETISIERUNGSVERHALTENS DUENNER  
EISENFOLIEN MIT HILFE DES MOESSBAUEREFFEKTES  
DIPLOMARBEIT (UNIVERSITAET KARLSRUHE, 1972)
- (21) PRESTON, R.S., HANNA, S.S. AND HEBERLE, J.  
MOESSBAUER EFFECT IN METALLIC IRON  
PHYS. REV. 128 (1962), 2207-2218
- (22) COSGROVE, J.G. AND COLLINS, R.L.  
MOESSBAUER VELOCITY CALIBRATION VIA INTERFEROMETRY  
NUCL. INSTR. METH. 95 (1971), 269-274