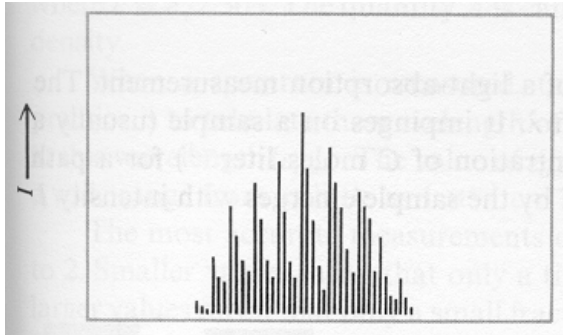
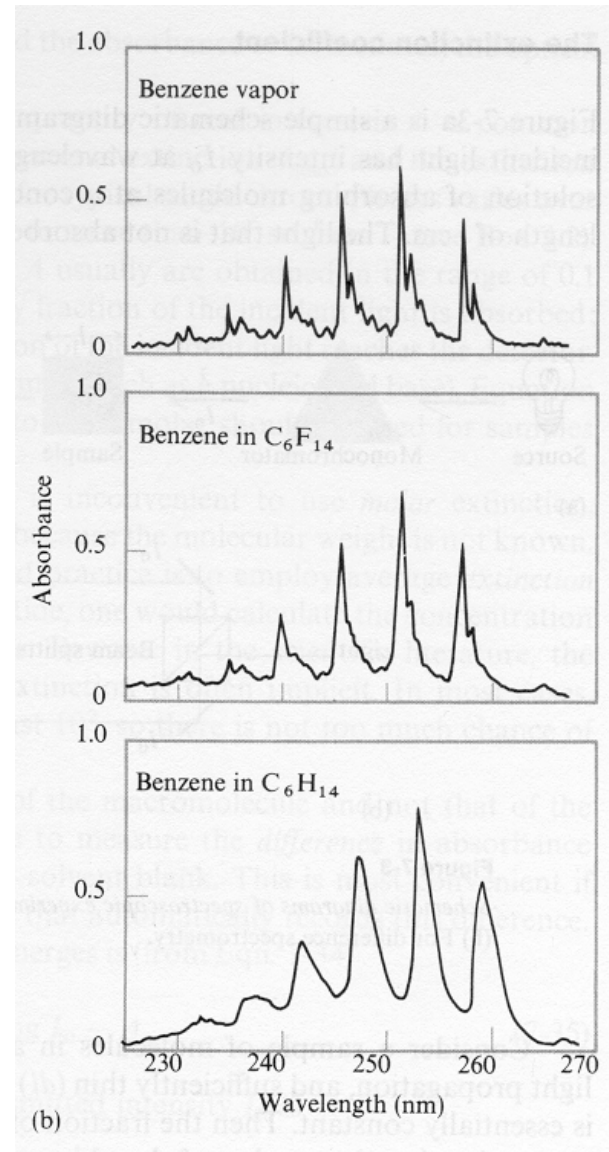


Theorie



Experiment



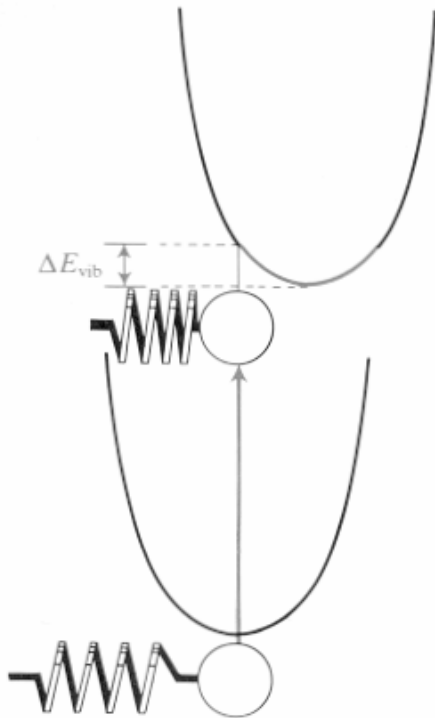


Abb. F.9 Die klassische Version des Franck-Condon-Prinzips.

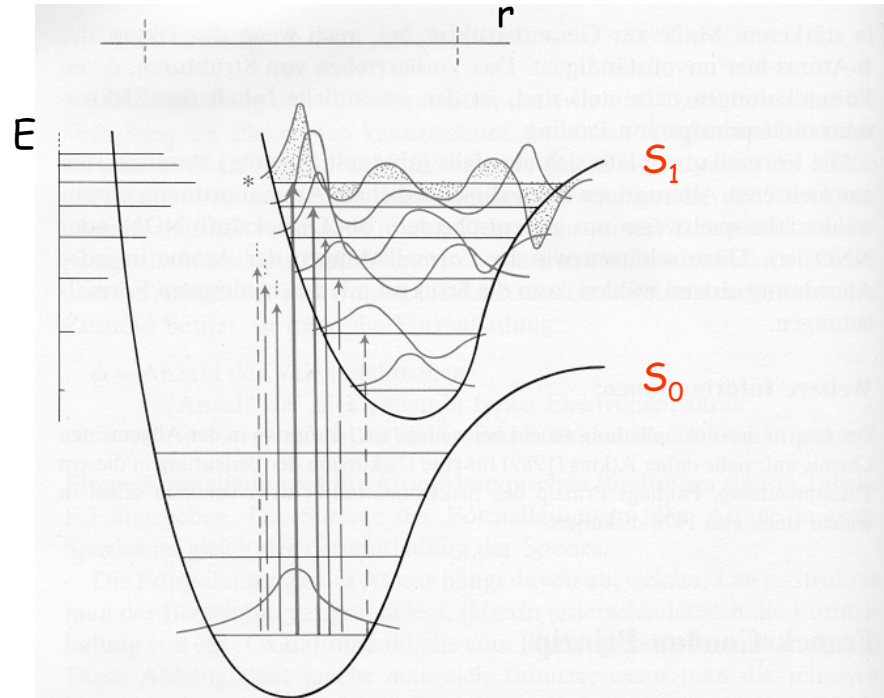


Abb. F.10 Die quantenmechanische Version des Franck-Condon-Prinzips. Der Übergang erfolgt am wahrscheinlichsten von der Wellenfunktion des Schwingungsgrundzustandes zu dem Schwingungszustand (*) im oberen elektronischen Zustand, der dem Ausgangszustand am ähnlichsten ist.

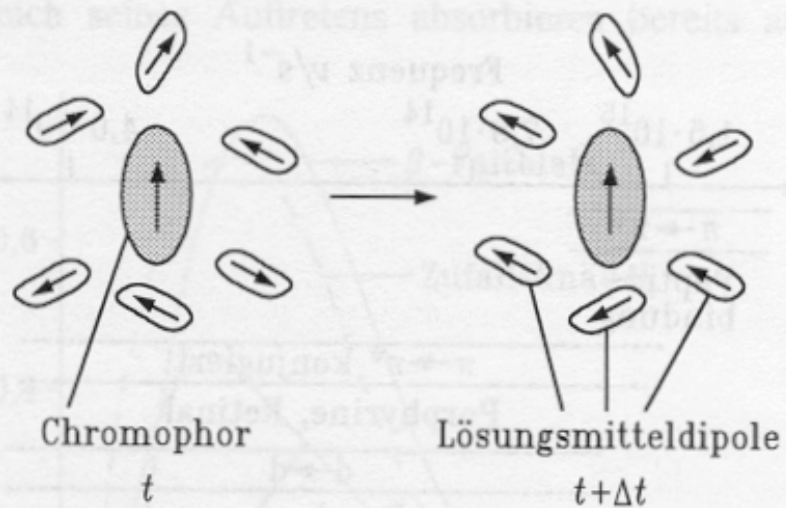


Abb. V.20:

Zeitliche Änderung des Dipolfeldes um ein Chromophor durch Bewegung der Lösungsmitteldipole. Das Chromophor sieht ein sich zeitlich änderndes Dipolfeld in seiner Umgebung. Dadurch wird das Übergangsdipolmoment sowie die Form der Absorptionsbande beeinflusst.

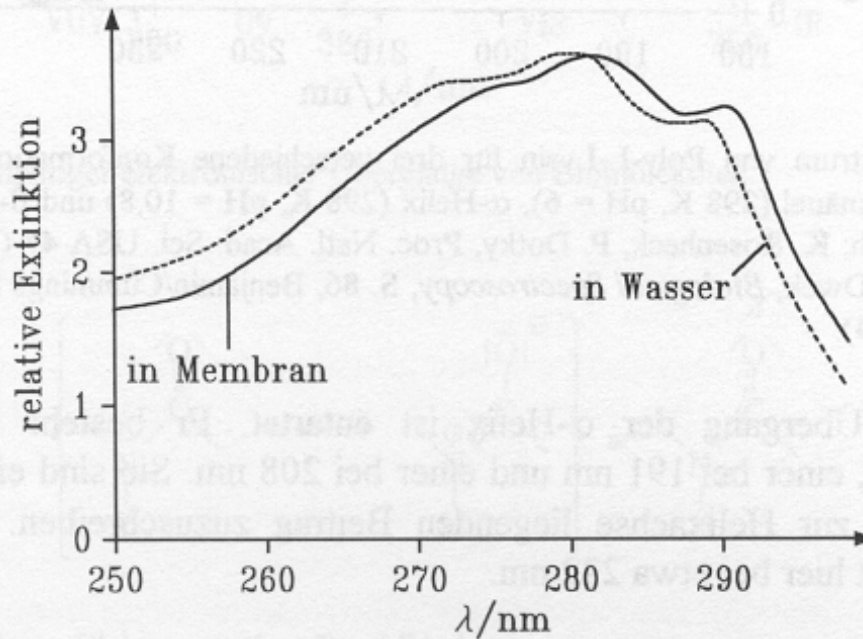
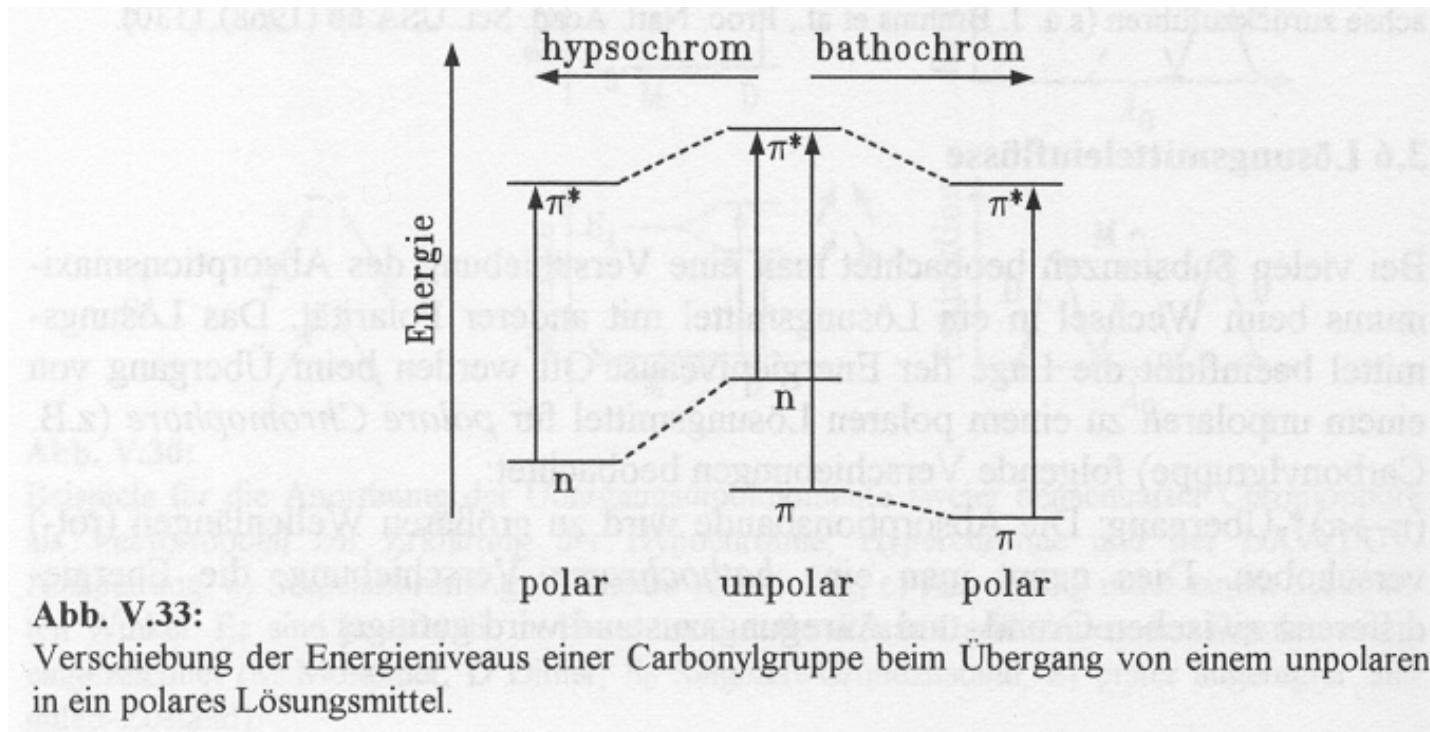


Abb. V.25:

Hypsochromer Effekt für das Peptid Melittin (Bestandteil des Bienengifts). Für die Absorption ist hauptsächlich die Aminosäure Tryptophan verantwortlich. Bei Inkorporation in eine Lipidmembran (hydrophobe Umgebung) wird das Spektrum relativ zu dem in Wasser rotverschoben (nach: S. Georghiou, M. Thompson, A.K. Mukhopadhyay, Biochim. Biophys. Acta **688** (1982) 441).

rot-verschoben blau-verschoben



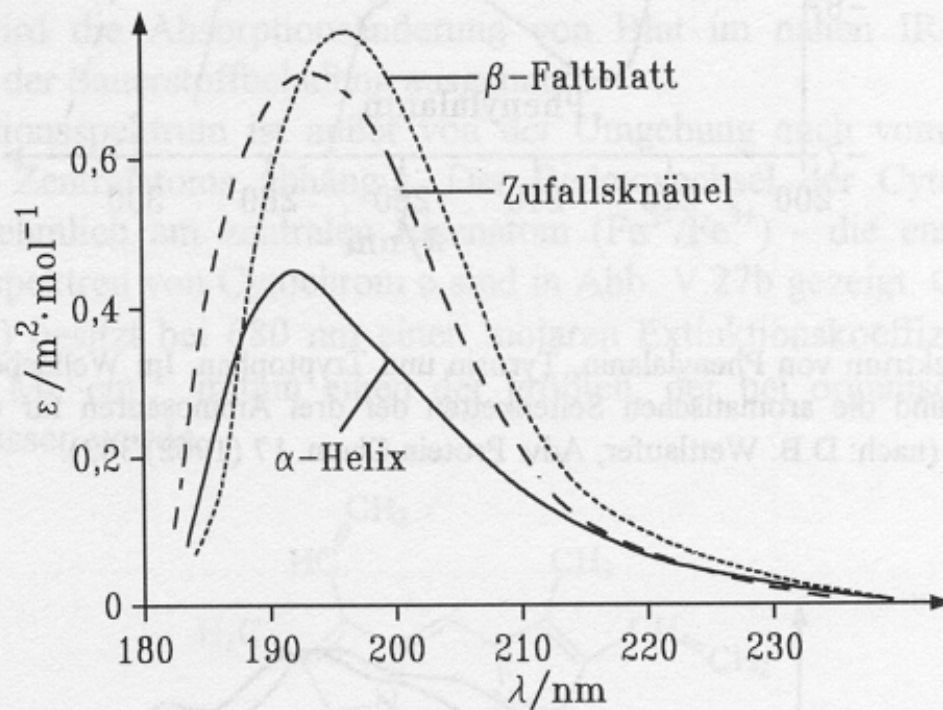
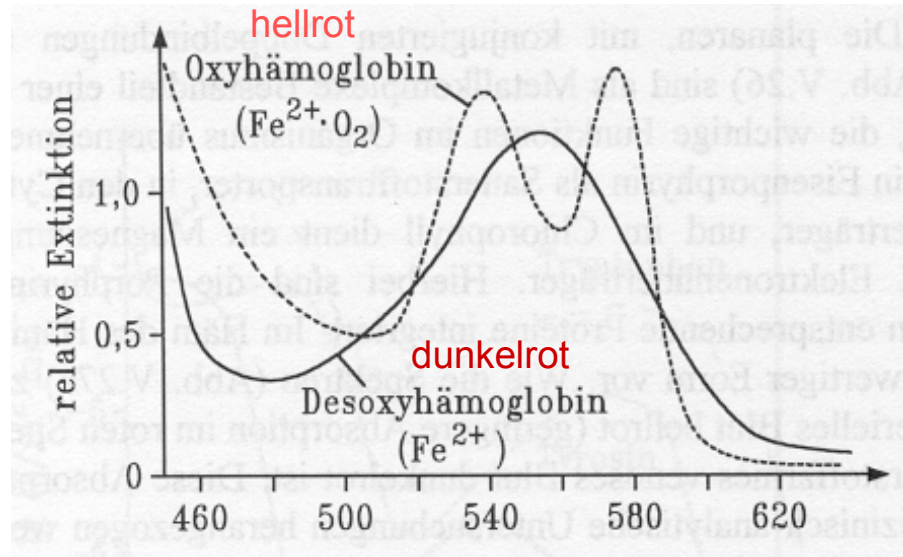
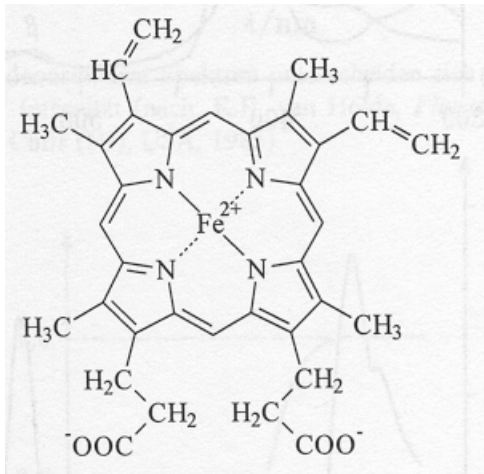


Abb. V.23:

Absorptionsspektrum von Poly-L-Lysin für drei verschiedene Konformationen in wässriger Lösung: Zufallsknäuel (298 K, pH = 6), α -Helix (298 K, pH = 10,8) und β -Faltblatt (325 K, pH = 10,8) (nach: K. Rosenheck, P. Dotky, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **47** (1961) 1775; I.D. Campbell, R.A. Dwek, *Biological Spectroscopy*, S. 86, Benjamin/Cummings Publ. Co., Menlo Park, USA, 1984).



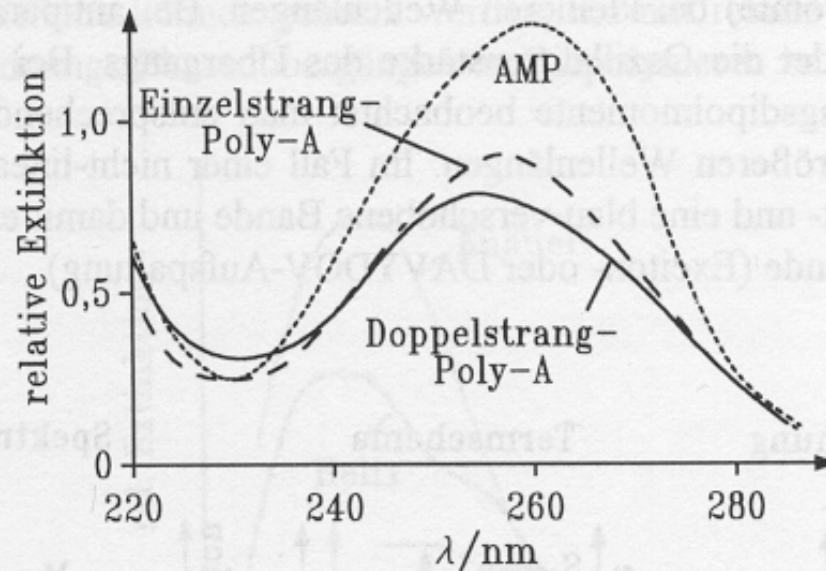


Abb. V.28:

Hypochromie von Poly-Adenosin. Die Spektren unterscheiden sich in ihrer Form nur wenig, jedoch signifikant in ihrer Intensität (nach: K.E. van Holde, *Physical Biochemistry*, S. 192, Prentice-Hall, Englewood Cliffs (NJ), USA, 1985).

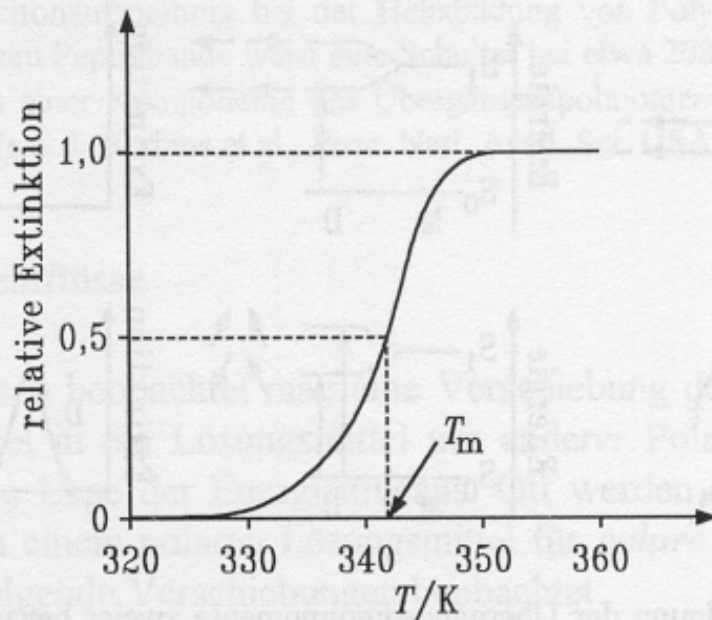
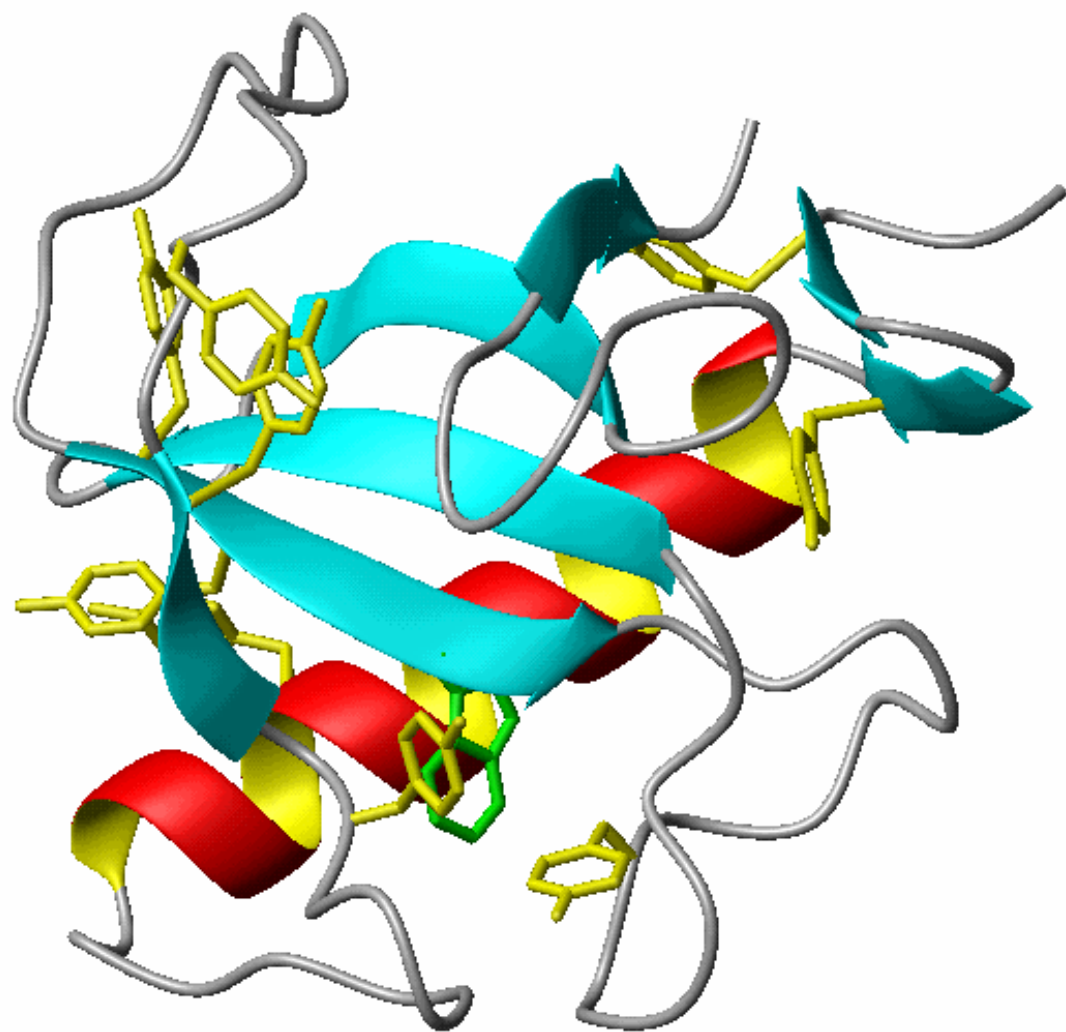
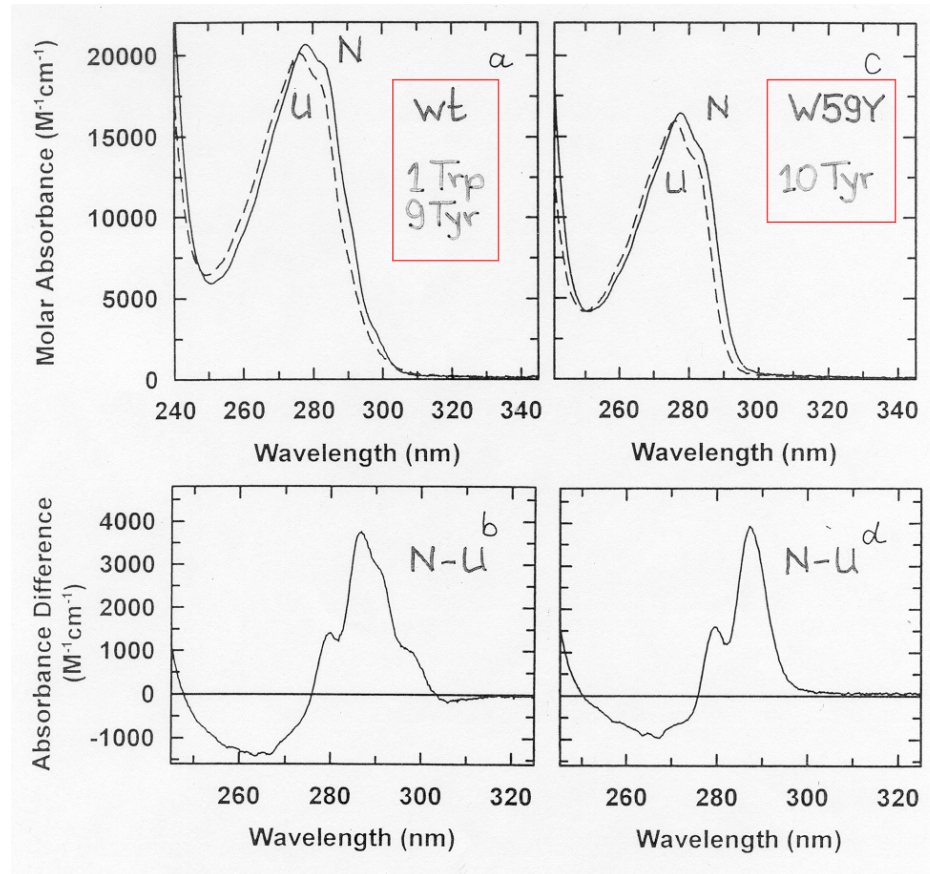


Abb. V.29:

Zunahme der Extinktion ($\lambda \approx 260$ nm) beim thermisch induzierten Aufbrechen der Doppelhelixstruktur von DNA. Beim „Schmelzen“ von DNA erfolgt ein drastischer Anstieg der Extinktion bei etwa 260 nm. Er ist typisch für einen hochkooperativen Prozeß (s. z.B. D. Voet et al., Biopolymers **1** (1963) 193).



RNase T1: Änderung der Absorption durch Entfaltung



15mM in 0.1M Na-Acetat, pH 5.0, 25°C, +/- 6M GdmCl, 1-cm Küvette

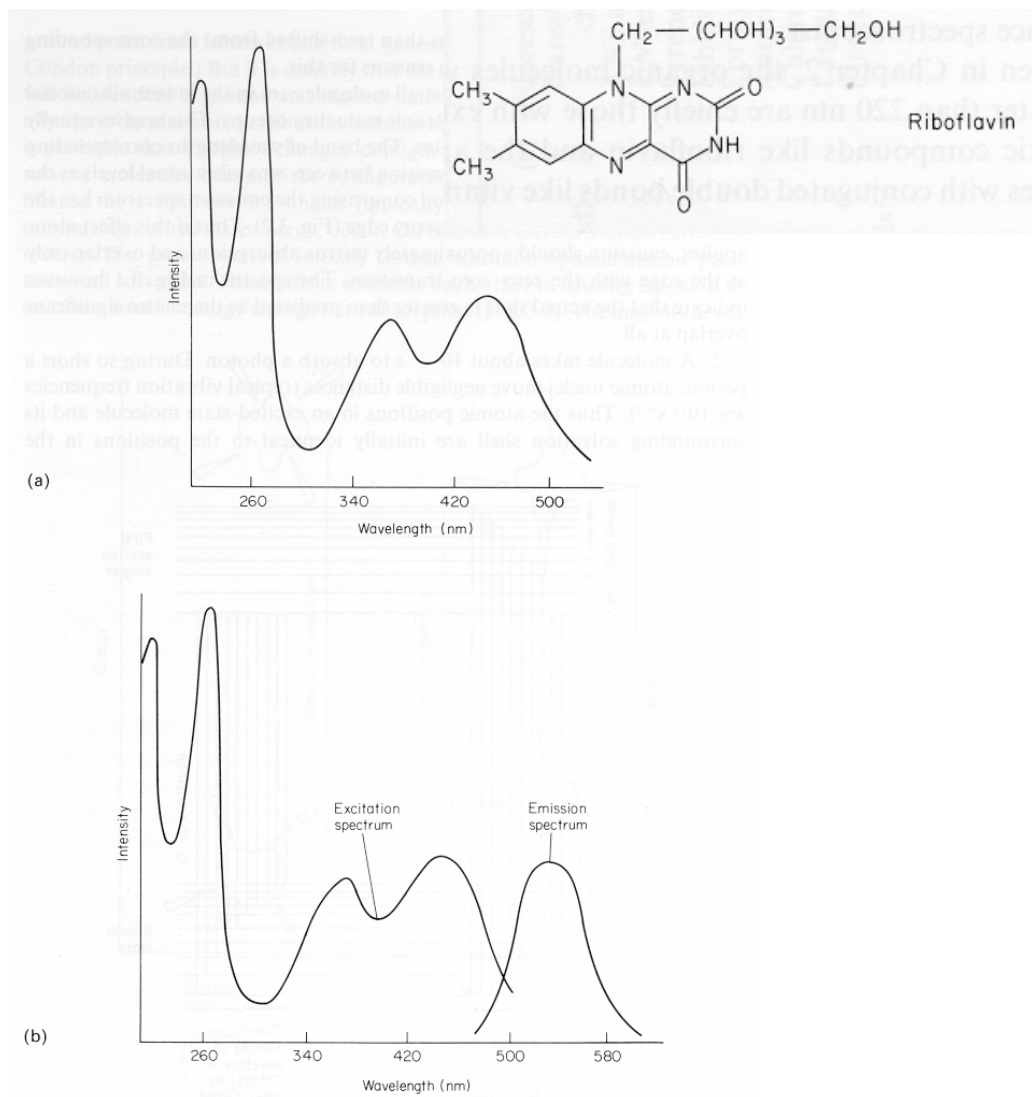
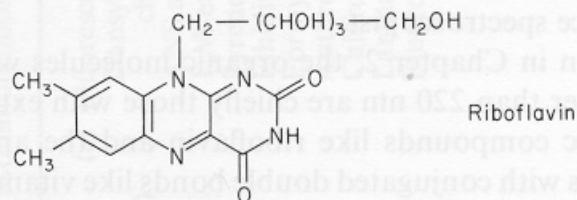


FIG. 3.1 (a) Absorption spectrum and (b) fluorescence excitation and emission spectra of aqueous FMN (pH 7).

TABLE 3.1 Environmental sensitivity of the flavin spectrum in aqueous solution (pH 7)^a



Environment	Absorption maximum (nm)	Molar absorption coefficient ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	Fluorescence maximum (nm)	Quantum yield of fluorescence
Riboflavin	445	12 000	525	0.25
FMN	445	12 000	525	0.25
FAD	445	11 000	525	0.05
FAD in lipoic acid dehydrogenase	455	11 000	520	0.11
FAD in thioredoxin reductase	455	11 000	520	0.04
FAD in L-amino acid oxidase	460	11 000	not observable	
FMN in old yellow enzyme	465	11 000	530	0.01
FMN in lactate oxidase	460	11 000	not observable	

^a Spectral maxima and molar absorption coefficients do not vary widely in non-aqueous solvents (e.g. the absorption maximum in dioxan is unchanged while emission is at 520 nm) but quantum yield is more sensitive (e.g. riboflavin in dioxan—0.71; FMN in 50% aqueous DMSO—0.20; FAD in 50% aqueous DMSO—0.12).

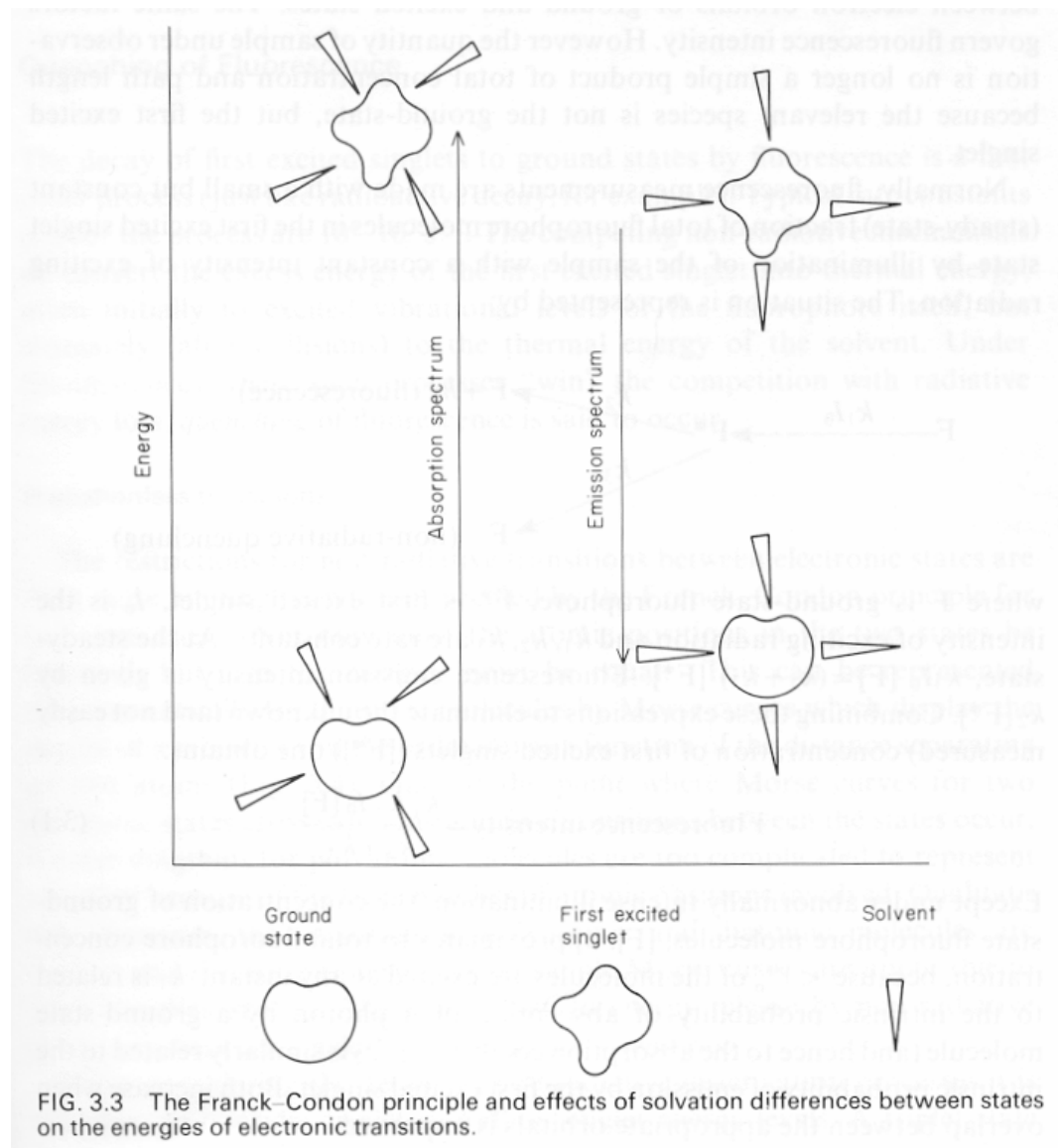


FIG. 3.3 The Franck-Condon principle and effects of solvation differences between states on the energies of electronic transitions.

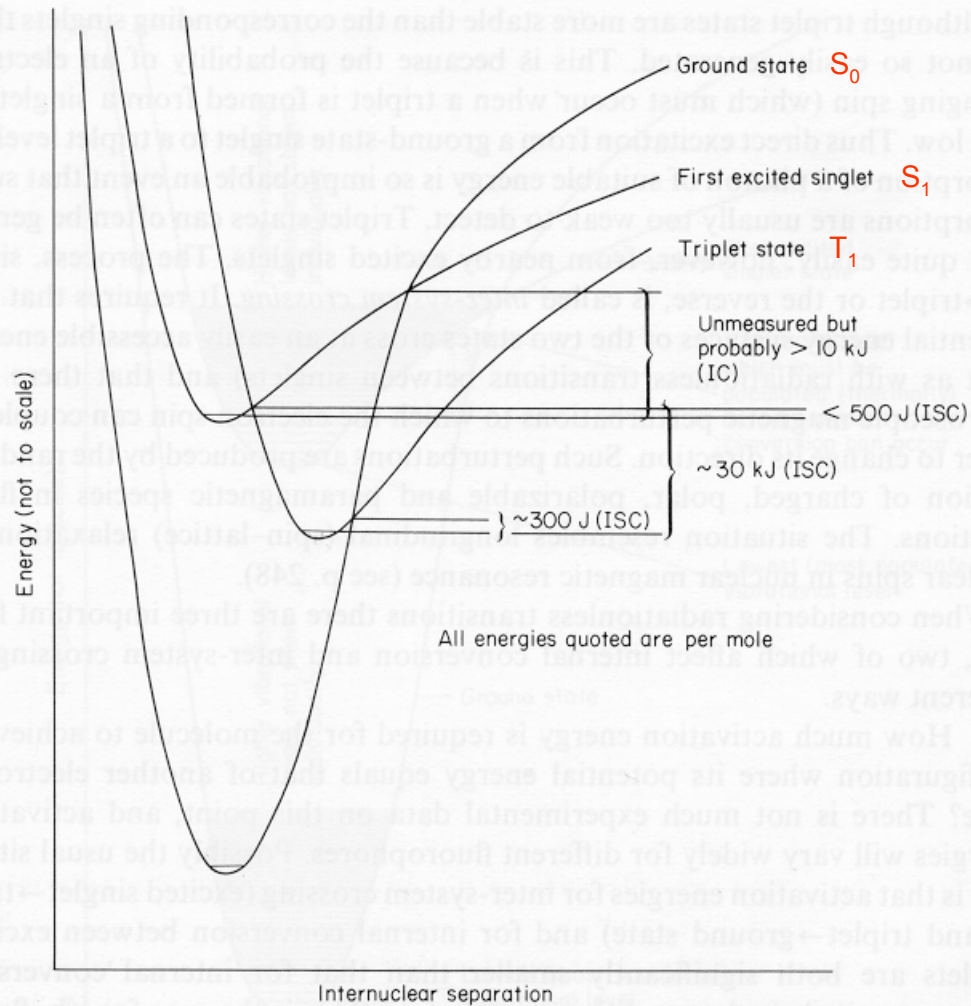
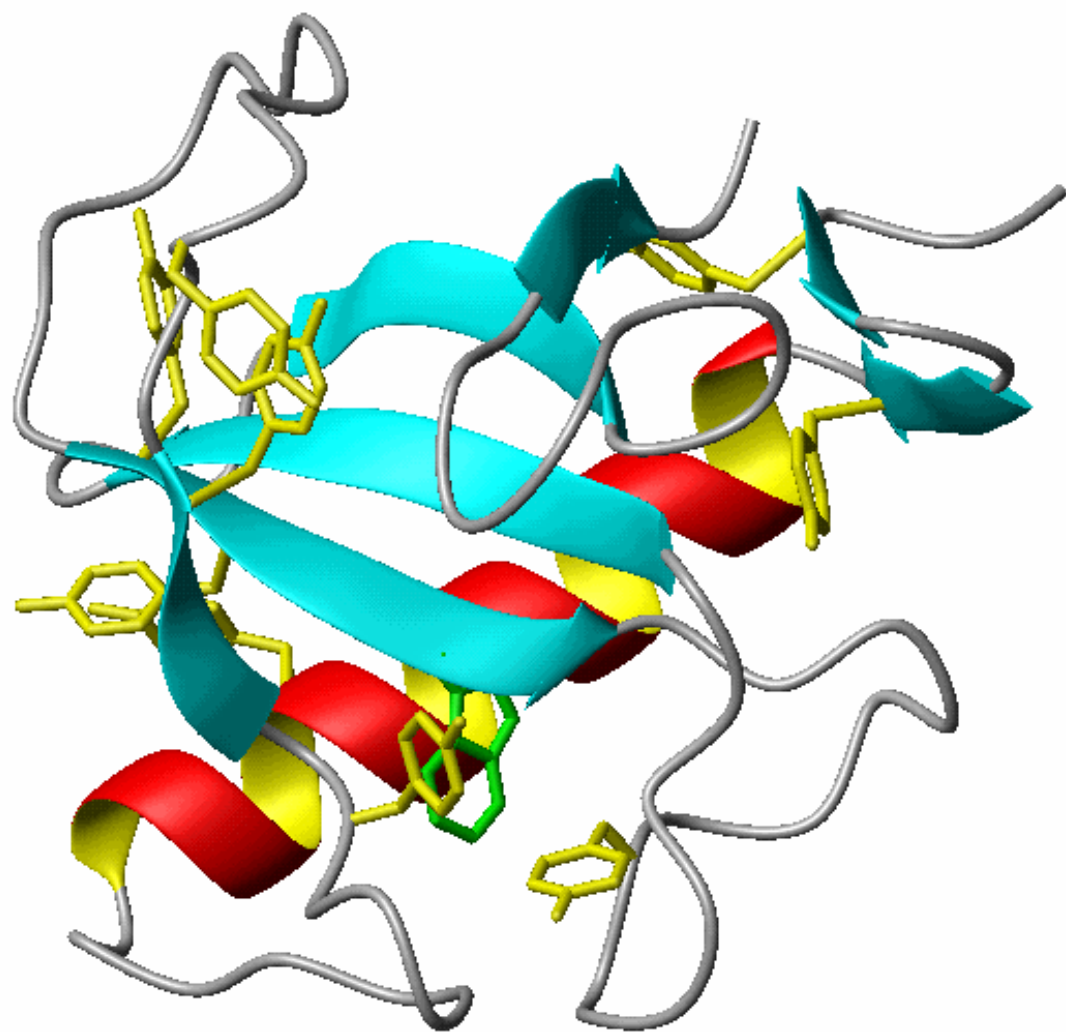


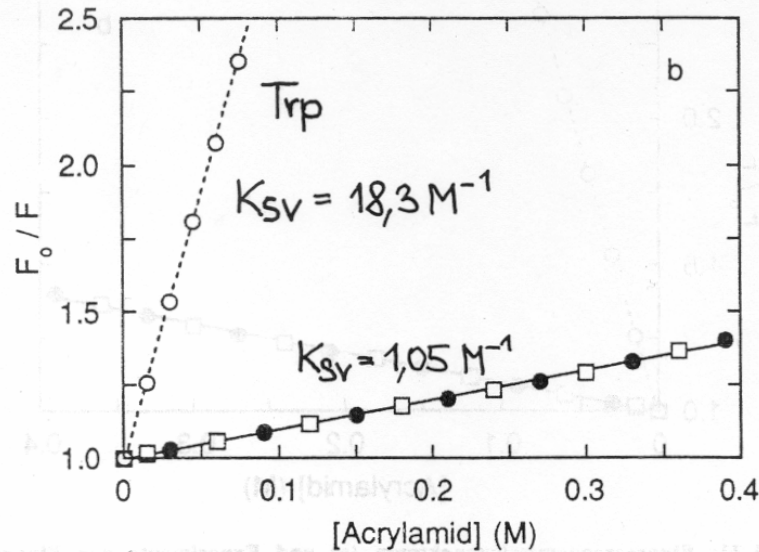
FIG. 3.5 Activation energies of internal conversion (IC) and inter-system crossing (ISC) for riboflavin.



RNase T1 : Ein Trp

Fluoreszenzlöschung durch Acrylamid

(Lorenz Mayr)



Trp59 in
RNase T1: wt
& P39A

Abb. 3-31: Fluoreszenzemissionsspektrum (a) und Experimente zur Fluoreszenzlöschung mittels Acrylamid (b) bei Wildtyp-RNase T1 und der P39A-Variante bei pH 5.0, 25°C.

Bild a zeigt die Fluoreszenzemissionsspektren (Bandbreite 3 nm) von Wildtyp-RNase T1 (·····) und der P39A-Variante (—) nach Anregung bei 268 nm (Bandbreite 1.5 nm). Die Proteinkonzentration war 9 μM in 0.1 M NaAc, pH 5.0, 25°C.

Bild b zeigt Stern-Vollmer-Auftragungen der Fluoreszenz-Löschung durch Acrylamid. Die Anregung erfolgte bei 295 nm (Bandbreite 1.5 nm), die Emission wurde bei 320 nm (Bandbreite 10 nm) gemessen. Die Lösungsbedingungen waren 0.01 M NaAc, pH 5.0, 25°C. Die Fluoreszenzlöschung einer 5 μM Lösung von N-Acetyl-Tryptophanamid (O, $K_{sv} = 18.3 \text{ M}^{-1}$) wird mit einer 5 μM Lösung von Wildtyp-RNase T1 (□, $K_{sv} = 1.01 \text{ M}^{-1}$) und der P39A-Variante (●, $K_{sv} = 1.06 \text{ M}^{-1}$) verglichen.

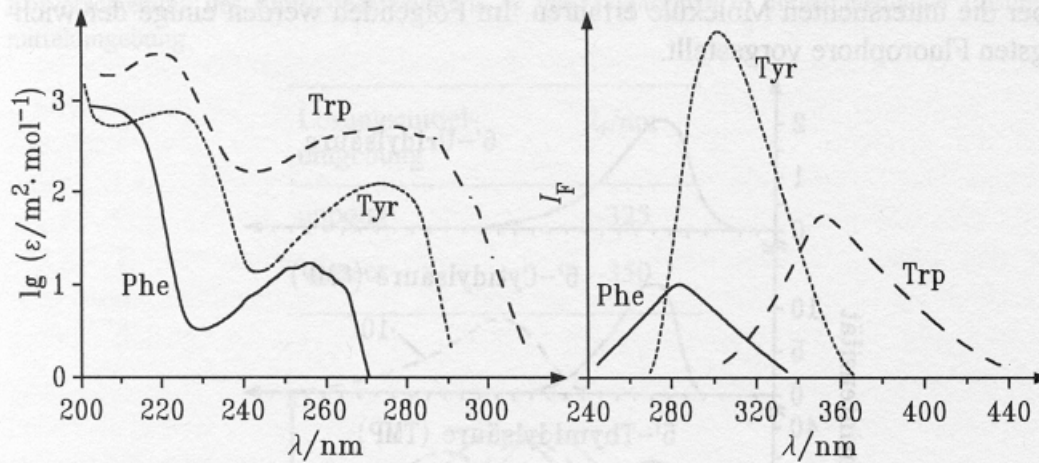
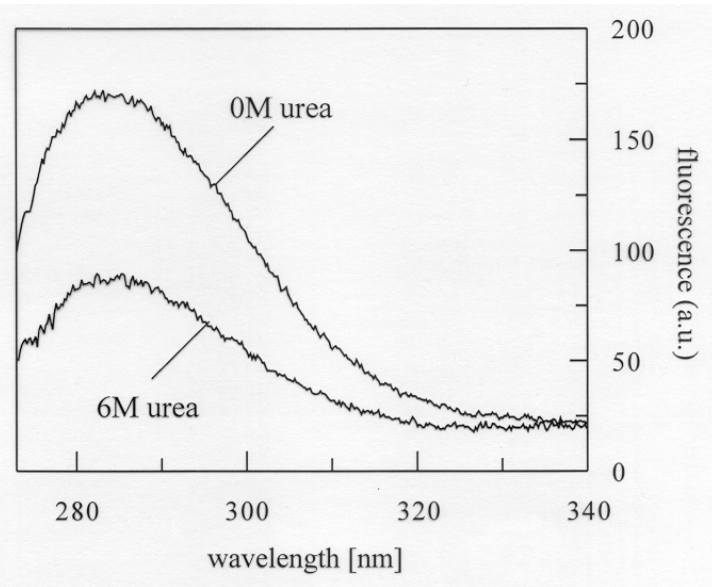
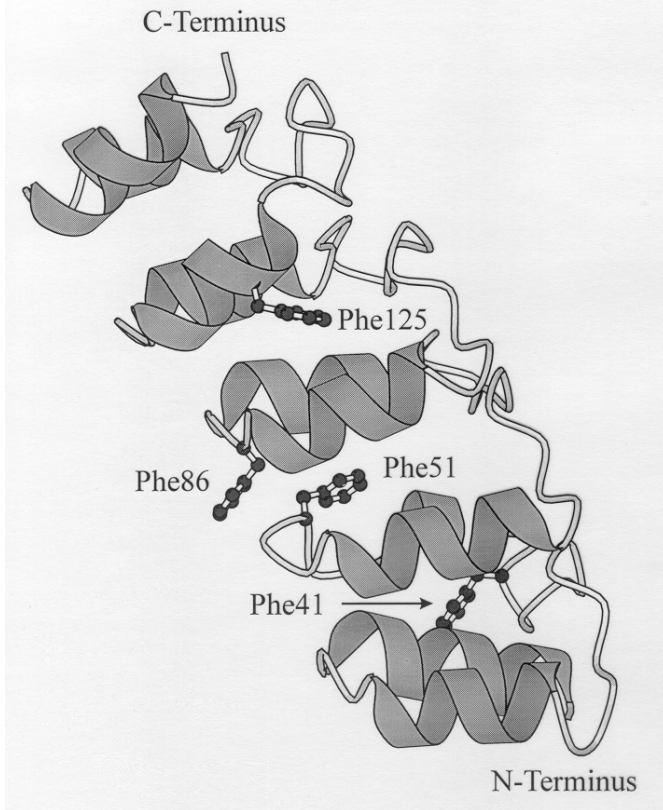


Abb. V.75:

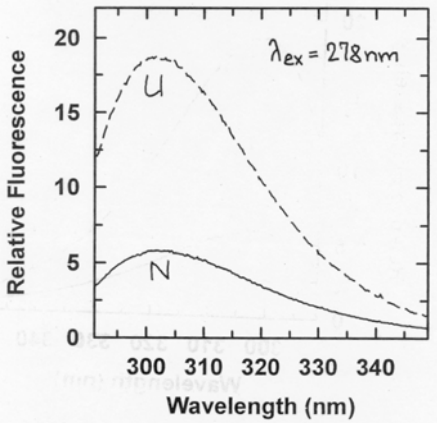
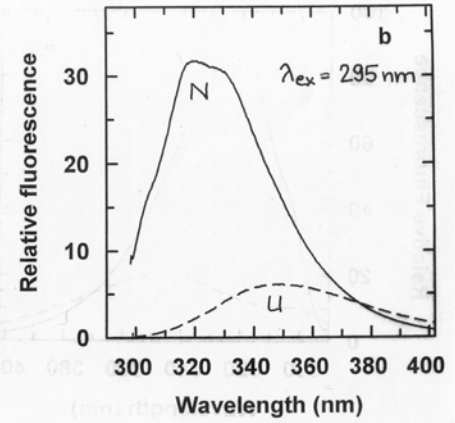
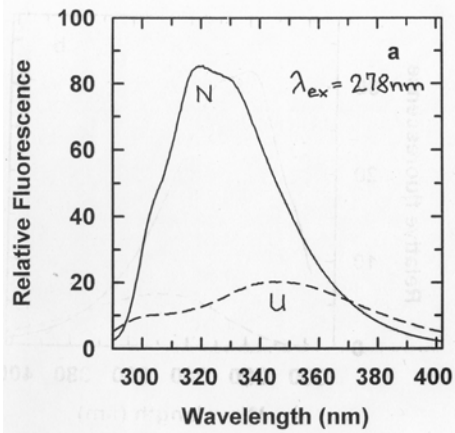
Absorptions- und Fluoreszenzspektren der aromatischen Aminosäuren Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin (nach: F.W.J. Teale, G. Weber, *Biochem. J.* **65** (1957) 476). Die Fluoreszenzlebensdauer der intrinsischen Fluorophore liegt bei $\tau_F < 6$ ns. In der Regel überwiegt die Fluoreszenzstrahlung der Tryptophanreste. Die Quantenausbeuten Q_F von Phenylalanin und Tyrosin sind oft sehr klein.

	λ_{exc} (nm)	λ_{em} (nm)	ϵ_{exc} ($M^{-1}cm^{-1}$)	Fluor. Ausbeute	rel. Fluor.
Trp	280	348	6000	20%	100
Tyr	275	303	1500	21%	9
Phe	260	282	200	4%	<0.5

CDK-Inhibitor P19^{INK4d}



Zeeb et al. (2002), J. Mol. Biol. 315, 447-457.



RNase T1 : fluorescence spectra (1,4 μM , 0.1 M NaAc, pH 5.0, 25°C +/- 6 M GdmCl)
(1 Trp, 9 Tyr)

W59Y-RNase T1
(0 Trp, 10 Tyr)

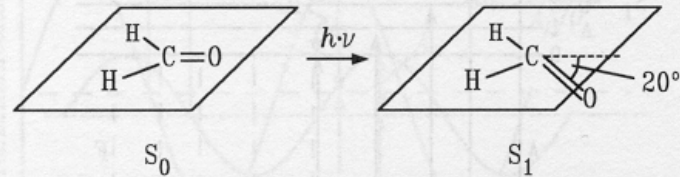


Abb. V.70:

Die verschiedenen räumlichen Strukturen von Formaldehyd im elektronischen Grund- und angeregten Zustand. Im angeregten Zustand liegt das Molekül in einer gewinkelten Form vor und besitzt ein anderes elektrisches Dipolmoment. Dementsprechend wechselwirken beide Spezies unterschiedlich mit dem Lösungsmittel.

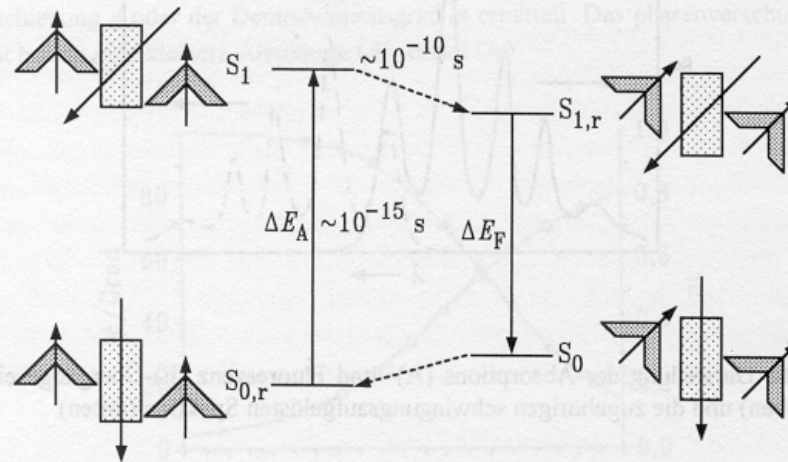


Abb. V.71:

Erklärung der Rotverschiebung des Fluoreszenzspektrums eines Chromophors durch den Einfluß eines polaren Lösungsmittels (H_2O) im Energieniveauschema. Die H_2O -Moleküle und Chromophore mit ihren Dipolmomenten sind nur schematisch angedeutet ($S_{0,r}$, $S_{1,r}$ relaxierter elektronischer Grund- und angeregter Zustand).