

Übungsblatt 1

Besprechung: *Donnerstag, 4. 5. 2017 um 9:45 Uhr, Raum 6 - 1*

Für eine erfolgreiche Teilnahme an der Übung gelten folgende Voraussetzungen:

- Anwesenheit bei sämtlichen Übungen (1x unentschuldigtes Fehlen erlaubt)
- Bearbeitung von mindestens 75% der Aufgaben bis zum Ende des Semesters

Aufgabe 1 Dimensionen in der Biophysik

Im Folgenden sollen Sie sich mit den Größenordnungen vertraut machen, die in der Biophysik eine Rolle spielen.

- Geben Sie die ungefähren Größen der folgenden Objekte an:
Rote Blutzelle, Virus, Bakterium, Bindungsabstand einer C=O – Bindung, menschliche Eizelle, Aminosäure, kleines Protein.
- Geben Sie die ungefähre Dauer der folgenden Prozesse an:
Proteinsynthese, Proteinfaltung, Bewegung von Proteindomänen, enzymkatalysierte Reaktion, primärer Sehvorgang.
- Was sagt der pH-Wert über eine Flüssigkeit aus? Geben Sie den ungefähren pH-Wert der folgenden Flüssigkeiten an:
Bier, Cola, Zitronensaft, Blut, Kaffee, Bleichmittel, Magensäure, destilliertes Wasser
- Geben Sie typische Energien an:
Thermische Energie bei Raumtemperatur, Energie einer Wasserstoffbrückenbindung, Photonenenergie bei sichtbarem Licht, durch ein Molekül ATP (Adenosintriphosphat) bereitgestellte Energie.

Aufgabe 2 Physikalische Denkweise und Abschätzungen

Nehmen Sie anhand sinnvoller Grundannahmen folgende Abschätzungen vor:

- Wie viele Klavierstimmer gibt es in Karlsruhe?
- Aus wie vielen Zellen besteht der menschliche Organismus? *100 Billionen*
- Wie viele Einzelbildaufnahmen sind nötig für einen durchschnittlichen Kinofilm?

40 · 60 · 90

Aufgabe 3 Levinthal-Paradoxon

- ✓ a) In der Vorlesung haben Sie das Levinthal-Paradoxon kennengelernt. Erklären Sie es noch einmal mit eigenen Worten.
- ✓ b) Ein Protein bestehe aus 200 Aminosäuren, welche kettenartig aneinandergereiht sind. Der Einfachheit halber sei angenommen, dass jede Aminosäure in Bezug auf ihren nächsten Nachbarn drei mögliche Raumwinkel annehmen kann. Eine Änderung der Konformation erfolgt in Femtosekunden. Wie lange dauert es, bis die Aminosäurenkette jede mögliche Konformation mindestens einmal angenommen hat?
- ✓ c) Erläutern Sie kurz das bekannte Experiment von Christian Anfinsen zur Proteinfaltung. Warum hatte er Glück, sich für Ribonuklease entschieden zu haben? Hätte sein Experiment auch mit Insulin funktioniert?

✓ Aufgabe 4 Packungsdichte von Proteinen

Berechnen Sie die Packungsdichte für Atome eines einfachen kubischen Kristalls (sc) sowie eines Kristalls der dichtesten Kugelpackung (ccp). Bei Proteinen liegt die Packungsdichte in manchen Molekülregionen über, in anderen deutlich unter diesen Werten. Wie kann das sein?

Bei Fragen können Sie sich jederzeit wenden an:

Dr. Gernot Guigas

Institut für Angewandte Physik, AG Nienhaus

Raum: 6 – 11

Telefon 0721 608 47480

Email: gernot.guigas@kit.edu

① b) Proteinsynthese:

Proteinfaltung

Bewegung von Proteindomänen

~~enzymkatalysierte Reaktion~~: Carbohydraz

~~primärer Schwingung~~:

(iv) enzymkatalysierte Reaktion:

Carbonhydrase (katalysiert $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ zu H_2CO_3): $1,67 \cdot 10^{-6} \text{ s} = 1,67 \mu\text{s}$

Lactatdehydrogenase (Bildung von Lactat): $10^{-3} \text{ s} = \boxed{1 \text{ ms}}$ kürzester Wert

DNA-Polymerase (DNA-Synthese): 67 ms

Lysotymol): 2 s

(v) primärer Schwingung: $50-80 \text{ ms}$, Nervenerregung: 1 ps

(i) Proteinsynthese: Prokaryote $\approx 6 \text{ sec}$

- ≈ 300 Aminosäuren (Aa)

- Translationsrate $\approx 50 \frac{\text{Aminosäuren}}{\text{s}}$

Eukaryote: $\approx 2 \text{ min}$

- $\approx 100 \text{ Aa}$

- Translationsrate $\approx 5 \frac{\text{Aa}}{\text{s}}$

(ii) Faltung: Hängt ab von Länge

Längstfaltung: länger als 1 ms

Aus Simulationen: $1-2000 \mu\text{s}$

(iii) Proteindomänen $\approx 1 \mu\text{s}$

③ a) Die Anzahl der möglichen Faltungen eines Proteins mit n Aminosäuren ~~ist~~ und m Zuständen pro Aminosäure ist zu groß, als dass das Protein in einer endlichen Zeit durch „Ausprobieren“ gefaltet werden könnte.

b) $3^{200} \cdot 10^{-15} \text{ s} = \del{3 \cdot 10^8} 2,66 \cdot 10^{80} \text{ s} \gg \text{Alter des Universums}$

c) i) Anfinsen hat Ribonuklease durch Harnstoffzugabe in die Lösung denaturiert. Durch den Harnstoff werden Disulfid-Brücken des Enzyms aufgebrochen \rightarrow keine enzymatische Aktivität mehr. Durch Entfernung von Harnstoff und in Gegenwart von Luftsauerstoff ~~ist~~ wird die Ribonuklease wieder in die aktive Form zurück gefaltet.

Folgerung: Alle Info zur Faltung ist in der Aminosäuresequenz gespeichert.

(ii) Insulin benötigt zur ~~Faltung~~ korrekten Faltung ein Propeptid, was im Laufe der Faltung abgespalten wird.
 \rightarrow ohne dieses Propeptid ist keine Faltung (nach Denaturierung) möglich

② a) 300.000 Einwohner, jeder 20. te hat ein Klavier \rightarrow 15.000 Klaviere
1 Klavierstimmer ^{schafft} ~~braucht~~ inkl. Anfahrt \approx 3 Klaviere pro Tag, ca. 250 Arbeitstage
 \rightarrow 750 Klaviere pro Jahr schafft er.
1-mal pro Jahr stimmen \rightarrow 20 Klavierstimmer

b) ca. 100 Billionen Zellen 10^{14} Zellen über Strahlst verkörpert
Masse von Zellen

c) $25 \text{ fps} \cdot 7200 \text{ s} = 180.000 \text{ frames}$

Biophysik Wi1

(4) i) Packungsdichte $P = \frac{N \cdot V_{\text{Atom}}}{V_{\text{Elementarzelle}}} = \frac{N \cdot \frac{4}{3} \pi r^3}{a^3} = \frac{1 \cdot \frac{4}{3} \pi r^3}{a^3} = \frac{\frac{4}{3} \pi \left(\frac{a}{2}\right)^3}{a^3} = \frac{\pi}{6} \approx 0,52 = 52\%$

Gitterparameter a (Abstand d. Punkte / Länge Einheitsvektor),

N : Anzahl der Atome in Elementarzelle ($N = \frac{1}{8} \cdot 8 = 1$)

$$V_{\text{Kund}} = \frac{4}{3} \pi r^3$$

(ii) kubisch dichteste Packung (KCP)

$$P = \frac{N \cdot \frac{4}{3} \pi r^3}{a^3} = \frac{4 \cdot \frac{4}{3} \pi r^3}{a^3} = \frac{4 \cdot \frac{4}{3} \pi \left(\frac{\sqrt{2}a}{4}\right)^3}{a^3} \approx 0,74 \approx 74\%$$

→ striken Bindungen usw. so

1) Größe

a) Rote Blutzellen $6 - 8 \mu\text{m}$

Virus: $0,02 - 0,2 \mu\text{m}$

Bakterien: ~~$10 \mu\text{m}$~~ $0,1 - 700 \mu\text{m}$

Bindungsabstand: $c_0 = 133,9 \text{ pm}$

menschl. Eizelle: $0,11 - 0,14 \mu\text{m}$

Aminosäure $< 1 \text{ nm}$

~~kleines Protein~~, ~~größtes Protein~~ kl. Prot. $5 - 10 \mu\text{m}$

b) pH: Anzahl H

Bleichmittel $12,5$

Bi: $5 - 6,5$

dest. H_2O : $7,0$

Cola: $2 - 3$

Kaffee 5

Magns. $1 - 1,5$

Zitronensäure: $2,4$

Blut ~~$7,4$~~

d) Thermo. En: 25 meV

Energie Wasserstoffbr. $0,25 - 1,25 \text{ kJ/mol}$

Photonenergie bei Licht $1,6 - 3 \text{ eV} \approx 2 - 6 \text{ kJ/mol}$

durch ein Molekül ATP $32,3 \text{ kJ/mol}$

Übungsblatt 2

Besprechung: Donnerstag, 11. 5. 2017 um 9:45 Uhr, Raum 6 - 1

Aufgabe 1 pH-Werte und Puffer

- ✓ a) Berechnen Sie den pH-Wert von 0.005 M Salzsäure und 0.005 M Natronlauge in wässriger Lösung. Es handelt sich hierbei um eine starke Säure bzw. Lauge.
- ✓ b) Welcher Wert würde sich beim Zusammenmischen beider Lösungen einstellen (gleiche Mengen)?
- ✗ c) Die Salzsäure wird in eine Pufferlösung von 0.1 M Natriumacetat ($pK_s = 4.75$) gegeben (wieder gleiche Mengen). Welcher pH-Wert stellt sich ein?
- ✓ d) Warum sind Puffer für biologische Systeme so wichtig?

Abgeschätzt $4 \text{ ml } 0,05 \text{ M HCl} + 0,05 \text{ M NaOH}$

Aufgabe 2 Freie Reaktionsenthalpie der Dissoziation

Zitronensäure ($H_3C_6H_5O_7$) besitzt drei dissoziierbare Protonen mit den pK -Werten 3.1, 4.8 und 6.4.

- ✓ a) Berechnen Sie die Gibbsche freie Reaktionsenthalpie der Dissoziation der drei Protonen bei Körpertemperatur 37°C.
- ✓ b) Wie groß ist die Stabilisierungsenergie (Differenz der ΔG -Werte) für das zweite und dritte Protein in kJ/mol?

Aufgabe 3 Wechselwirkungen

- ✓ a) Nennen Sie fünf Wechselwirkungen, die zwischen Atomen und Molekülen herrschen können. Wie hängt die jeweilige Bindungsenergie vom Abstand ab? Schätzen Sie die jeweiligen Bindungsenergien (in kJ/mol).
- ✓ b) Warum ist Butter bei Raumtemperatur fest, Öl aber flüssig? Verwenden Sie für Ihre Begründung passende Skizzen.

Aufgabe 4 Proteinstruktur

- ✓ a) Beschreiben Sie den Aufbau von Proteinen auf ihren verschiedenen Strukturebenen und gehen Sie dabei auf die relevanten Wechselwirkungen ein
- ✓ b) Was stellt ein Ramachandran-Plot dar? Skizzieren Sie einen solchen Plot für ein Proteinstück, welches zehn Alpha-Helices und fünf Beta-Faltblattstrukturen aufweist.

Bei Fragen können Sie sich jederzeit wenden an:

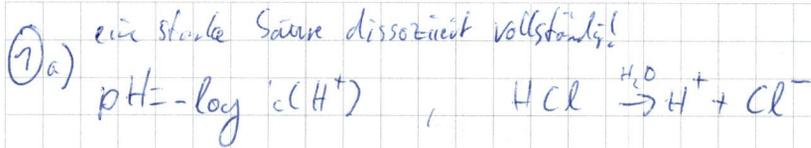
Dr. Gernot Guigas

Institut für Angewandte Physik, AG Nienhaus

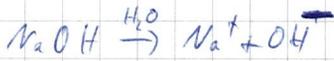
Raum: 6 – 11

Telefon 0721 608 47480

Email: gernot.guigas@kit.edu



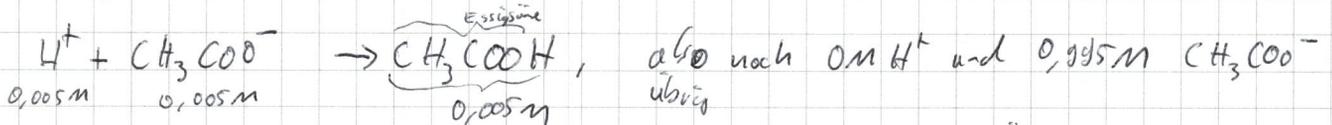
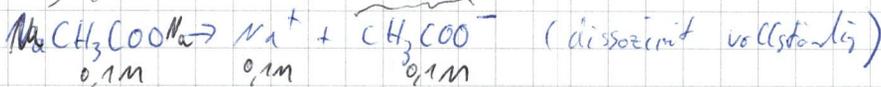
$$\Rightarrow pH = -\log(0,005) \approx 2,3$$



$$\Rightarrow pH = -\log(0,005) \approx 2,3 \quad pOH = 14 - pOH = 11,7$$

b) Es würde sich pH=7 einstellen (und es entsteht NaCl)

c) 0,1 M Natriumacetat, $pK_s = 4,75$



Henderson-Hasselbalch:
$$pH = pK_s - \log \frac{c(AH)}{c(A^-)} = pK_s - \log \left(\frac{0,005}{0,095} \right) = 4,75 - 0,995 = 3,75$$

d) Biol. Systeme sind empfindlich gegen pH-Wert schwankungen (Proteindissoziation) wirkt sich aus auf Durchf. von Zellwirtsreaktion, Einwirkung etc.

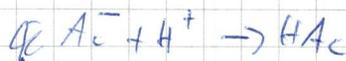
② a)
$$pK = \frac{\Delta G^0}{RT \cdot 2,303} \quad \Leftrightarrow \Delta G^0 = pK \cdot RT \cdot 2,303$$

$pK = 3,7$	$= 18,4 \text{ kJ/mol}$	= Nuller Wert
$pK = 4,75$	$= 28,5 \text{ kJ/mol}$	
$pK = 5,4$	$= 38,0 \text{ kJ/mol}$	

$$29,31 \frac{\text{kJ}}{\text{mol} \cdot \text{K}}$$

b) 9,5 kJ/mol

③ c) korrekt? $[HA] = [NaAc] + [HCl] = 0,105 \text{ M}$



$$[A^-] = [NaAc] - [HCl] = 0,095 \text{ M}$$

$$pH = pK_s - \log \left(\frac{0,105 \text{ M}}{0,095 \text{ M}} \right) = 4,75 - 0,04 = 4,71$$

② c) vom übrig

$$pH = pK_s + \log \frac{c(A^-)}{c(HA)}$$

0,1 M Puffer: 0,05 M A^- } pK
 0,05 M HA }

+ HCl: $n_{Ac^-} = 0,05 \text{ mol}$
 $n_{HA} = 0,05 \text{ mol}$

3) Bindungsart	Reichweite	Binden. in kJ/mol
kovalent	Kurzreichweit	Bindungsener. in $\frac{kJ}{mol}$ 750-800 (5-8eV)
elektrostatisch	$E = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon_0 r^2} \sim \frac{1}{r^2}$	500-2000
2. Dipol-Dipol	$E \sim \frac{1}{r^3}$	5-10 kJ/mol
3. Van-der-Waals	$\sim \frac{1}{r^6}$	0,1-10 kJ/mol (in Proteinen)
3. H-Brücke	$\sim \frac{1}{r^2}$	1-17 kJ/mol bis 767 kJ/mol

Dipol-induz. Dipol, $E \sim \frac{1}{r^6}$, Dipol-Dipol
 Kooperationskraft: 2 frei drehbare Dipole, $E \sim \frac{1}{r^6}$

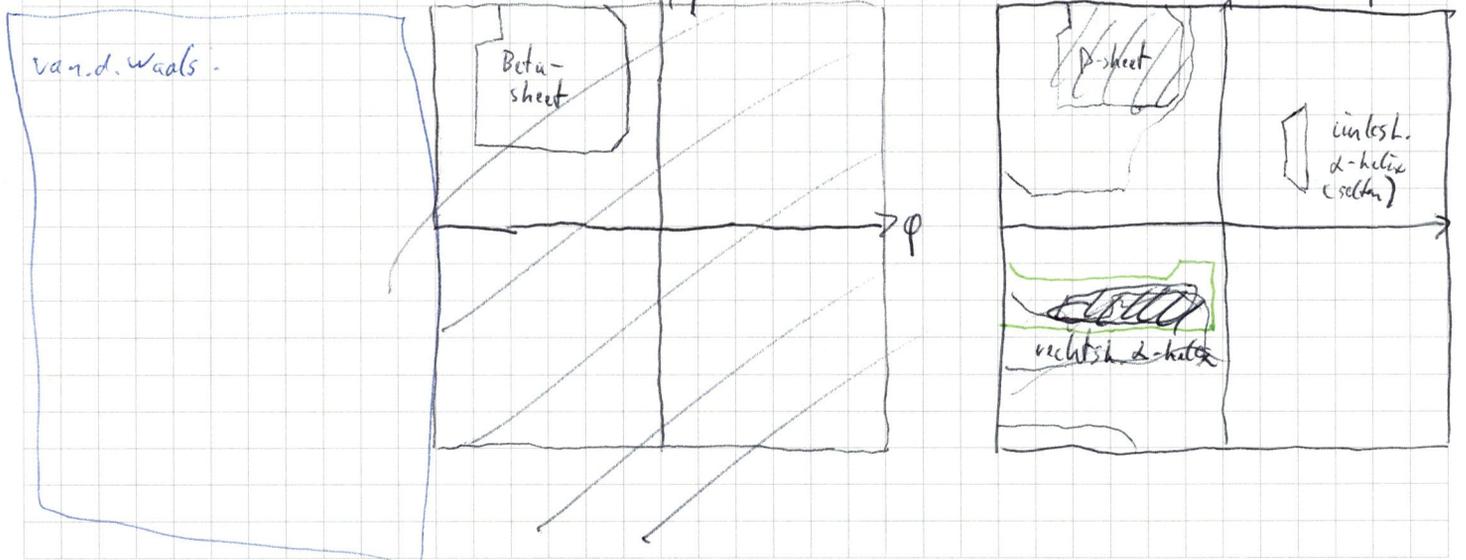
Pauli-Repulsion, $E \sim \frac{1}{r^{12}}$
 Ion-Dipol $E \sim \frac{1}{r^2}$, Ionenbindung, $E \sim \frac{1}{r}$, ionic bond
 Dipol-Dipol: $E \sim \frac{1}{r^3}$, 1-20 kJ/mol
 hydrophobe WW: \sim 1-20 kJ/mol
 Ladung-induz. Dipol, $E \sim \frac{1}{r^2}$, 1-20 kJ/mol
 Ladung-induziertes Dipol, $E \sim \frac{1}{r^2}$, 1-20 kJ/mol

b) gesättigte Fettsäure (Butter): keine C=C Doppelbindungen, hat also max. mögl. Anzahl an H-Atomen gebunden. \rightarrow dichte Packung der Moleküle, also fest (mehr van-d. Waals)
 ungesättigte Fettsäure: 1 oder mehrere Doppelbindungen (durch Entfernen von H-Atom entstanden).
 \rightarrow keine dichte Packung möglich \rightarrow flüssig
 durch C=C + Doppelbindung entstehen Knüde (meist 30°)
 \rightarrow weniger V-d-Waals-WW zu anderen Fettmolekülen



4a) Primär: Abfolge der Aminosäuren; kovalente Bindungen
 Sekundär: α -Helices, Falzblätter etc; H-Brücken
 Tertiär: Abfolge der Sek. Strukturelemente (z.B. mehrere Falzblätter): Disulfidbrücken, Ionenbindungen, H-Brücken, hydrophobe WW
 Quartär: Anordnung mehrerer Proteine; H-Brücken, V-d-Waals, Coulomb

b) Ramachandran-Plot: stellt statistische Verteilung der beiden Winkel ϕ und ψ dar:



Übungsblatt 3

Besprechung: *Donnerstag, 18. 5. 2017 um 9:45 Uhr, Raum 6 - 1*

~~Übung~~

✓ Aufgabe 1 Proteinsynthese

Die Informationen, die in der DNA enthalten sind, werden in zwei Schritten ausgelesen, in der Transkription und der Translation. Erläutern Sie den Ablauf beider Prozesse jeweils in einer Skizze. Wo finden die beiden Prozesse in der Zelle statt?

✓ Aufgabe 2 Lipidstrukturen

Wie sind Mizellen, Liposomen und Doppellipidschichten aufgebaut? Zellen werden manchmal als Flüssigkristalle bezeichnet – können Sie sich vorstellen, warum?

✓ Aufgabe 3 Mutationen in Aminosäureketten

Die Fehlerrate der Taq-Polymerase beim Ablesen von DNA beträgt in etwa 10^{-4} Fehler (Mutationen) pro Basenpaar. Von dieser Polymerase wird ein Plasmid (ringförmige DNA-Struktur) bestehend aus 3500 Basenpaaren abgelesen.

- Wie hoch ist die Wahrscheinlichkeit, dass es dabei höchstens zu einer Mutation kommt?
- Wie hoch ist die Wahrscheinlichkeit, dass es zu mindestens vier Mutationen kommt?
- Die Taq-Polymerase hat eine Fehlfunktion und in der resultierenden Aminosäurekette werden 250 Mutationen festgestellt. Wie hoch ist der Erwartungswert für die Anzahl tatsächlicher Mutationen?

Aufgabe 4 Einsteinkoeffizienten

- ✓ a) Betrachten Sie ein System mit zwei Energiezuständen S_1 und S_2 mit den jeweiligen Besetzungszahlen N_1 und N_2 (entsprechend der Boltzmannverteilung). Das System befindet sich im thermischen Gleichgewicht. Das herrschende Strahlungsfeld weist eine spektrale Energiedichte $\rho(\nu)$ auf, die durch das Plancksche Strahlungsgesetz wie folgt beschrieben wird: $\rho(\nu) = \frac{8\pi h \nu^3}{c^3} \frac{1}{e^{h\nu/kT} - 1}$

Für Absorption, spontane Emission und stimulierte Emission ergeben sich die folgenden Übergangsraten:

$$\frac{dN_1^{abs}}{dt} = -B_{12}N_1\rho(\nu)$$

$$\frac{dN_2^{spon}}{dt} = -A_{21}N_2$$

$$\frac{dN_2^{stim}}{dt} = -B_{21}N_2\rho(\nu)$$

Leiten Sie hieraus die drei Einsteinkoeffizienten A_{21} , B_{12} und B_{21} her.

- ✓ b) Berechnen Sie das Verhältnis der beiden Koeffizienten für spontane und stimulierte Emission für Mikrowellen mit $\nu = 3$ GHz, für Licht der Wellenlänge $\lambda = 500$ nm und für Röntgenstrahlen mit einer Energie $E_{photon} = 20$ keV.

Bei Fragen können Sie sich jederzeit wenden an:

Dr. Gernot Guigas

Institut für Angewandte Physik, AG Nienhaus

Raum: 6 – 11

Telefon 0721 608 47480

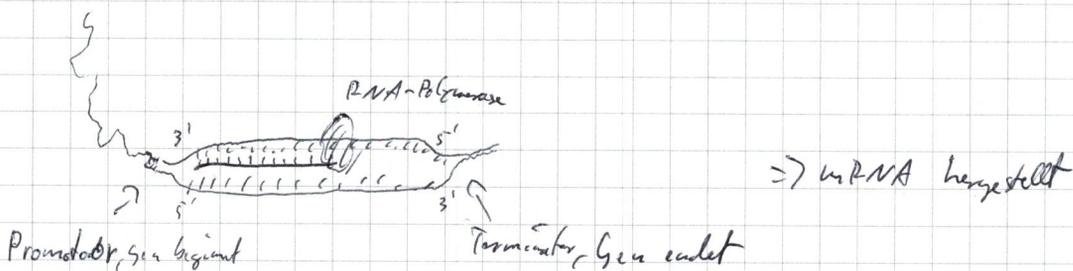
Email: gernot.guigas@kit.edu

Biophysik Ü3

①

Transkription: (in Zellen)

- RNA-Polymerase löst ~~HT~~-Bindungen der beiden DNA-Stränge. Nur einer wird benutzt für Herstellung der Kopie
- beginnt am 3' Ende und endet am 5' Ende (Richtung)
- Basenpaarung \rightarrow komplementäre Ribonucleotide (A-T, C-G, außer Adenin-Uracil)
- Die RNA stellt die Nucleotide nicht her!
- DNA wird am Ende wieder zusammengesetzt

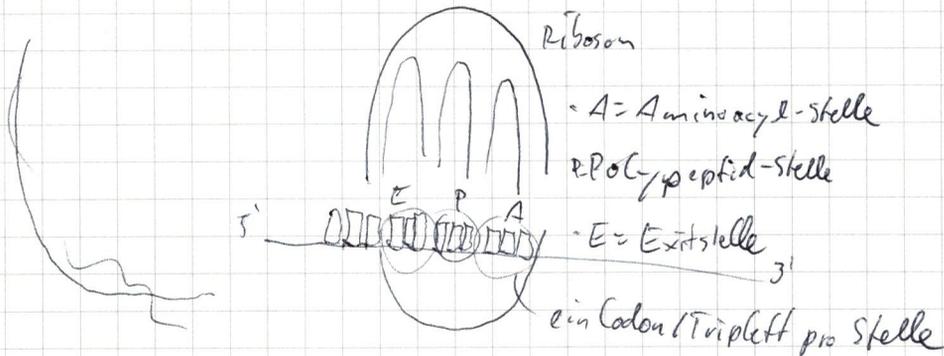


Translation

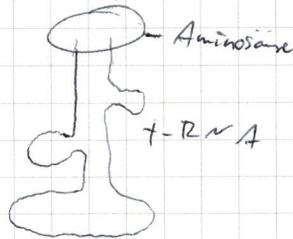
1. Capping: modifiz. Guanin-Nucleotid am 5'-Ende \rightarrow besser vor Abbau geschützt
 \rightarrow Zeichen für Zelle, das mRNA in Protein übersetzt werden soll
2. Polyadenylierung
bekommt einen Poly-A-Schwanz am 3'-Ende
 \hookrightarrow Adenin-nucleotid-kette
 \rightarrow Schutz vor Abbau
 \rightarrow reguliert Lebensdauer durch Schwanzabbau
3. Editing
evtl. Basenaustausch \rightarrow codiert auch für andere Aminosäuren \rightarrow Proteinvielfalt
4. Splicing
best. Abschnitte der mRNA werden entfernt

Translation (außerhalb d. Zellkerns)

- 3 Basen bilden 1 Aminosäure
- findet am Ribosom statt von 5' zu 3'-Ende

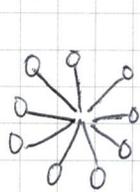
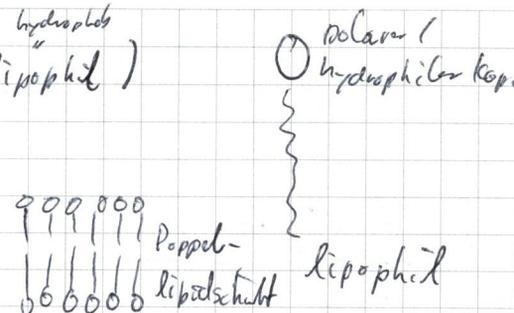


- Start-Aminosäure = Methionin (Met), AUG
- tRNA bringt Anti-Codon an die A-Stelle, oben befindet sich die passende Aminosäure

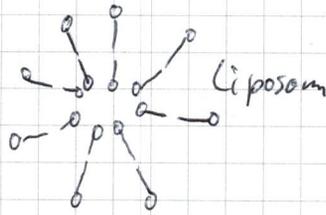


- Ribosom wandert 1 Stelle weiter (tRNA wandert an P-Stelle, an A-Stelle gibt Aminosäure ab)
- Stopp-Codon: UAA, UAG, UGA (am 3'-Ende)
- mRNA kann mehrmals gelesen werden

② Membranlipid: ist amphiphil (= hydrophil und lipophil)



Mizelle



Liposom

• Membranen sind flüssig (rasche Diffusion), aber geordnet → Flüssigkristalle

$$\rho(\nu) = \frac{8\pi h \nu^3}{c^3} \frac{1}{e^{\frac{h\nu}{k_B T}} - 1} \quad (I)$$

Boltzmann: $p_i = g_i \frac{e^{-\beta E_i}}{Z}$ (II)

↑ Wahrscheinlichkeit, Zustand in E_i zu finden
 ↑ Entropy
 $Z \leftarrow$ Zustandssumme (normiert)

Thermisches Gleichgewicht: $\frac{dN_1^{abs}}{dt} = \frac{dN_2^{spen}}{dt} + \frac{dN_2^{stim}}{dt}$ (III)

$$\rightarrow +B_{12} N_1 \rho(\nu) = +A_{21} N_2 + B_{21} N_2 \rho(\nu) \quad (IV)$$

Besetzungsanzahlen: $N_j \sim g_j e^{-\beta E_j}$ (Boltzmann) (V)

$$\frac{N_2(V)}{N_1} = \frac{g_2}{g_1} \frac{e^{-\beta E_2}}{e^{-\beta E_1}} = \frac{g_2}{g_1} e^{\beta(E_1 - E_2)} \quad (VI)$$

$$\frac{B_{12} \rho(\nu)}{A_{21} + \rho(\nu) B_{21}} = \frac{B_{12}}{A_{21} e^{-\beta E_1} + B_{21}} = \frac{g_2}{g_1} e^{\beta(E_1 - E_2)}$$

aus (VI) $\Rightarrow B_{12} = \frac{g_2}{g_1} e^{\beta \Delta E} (A_{21} e^{-\beta E_1} + B_{21})$ (VII)

$$\Leftrightarrow \frac{g_1}{g_2} B_{12} e^{-\beta \Delta E} - B_{21} = A_{21} e^{-\beta E_1} \quad \Leftrightarrow \rho = \frac{A_{21}}{\frac{g_1}{g_2} \frac{B_{12}}{B_{21}} (e^{-\beta \Delta E} - 1)} = \frac{A_{21}}{B_{21}} \frac{1}{\frac{g_1 B_{12}}{g_2 B_{21}} e^{-\beta \Delta E} - 1}$$

$$\rho(\nu) = \frac{8\pi h \nu^3}{c^3} \frac{1}{e^{\frac{h\nu}{k_B T}} - 1} \quad \leftarrow \text{koeff. vrl.}$$

$$E = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{1}{2}k_B \frac{h^2}{2m}$$

$$E = mgh = k_B \frac{h^2}{2m}$$

$$g_1 B_{21} = g_2 B_{21} \quad \text{und} \quad \frac{A_{21}}{B_{21}} = \frac{8\pi h \nu^3}{c^3}$$

b) $\frac{A_{21}}{B_{21}} = \frac{8\pi h \nu^3}{c^3}$ $\left[\frac{2.5 \cdot 10^3 \cdot \text{m}^3 \cdot \text{s}^{-3}}{\text{m}^3} \right] = \frac{2.5}{\text{m}^3} = \frac{k_B \frac{h^2}{2m} \cdot \frac{1}{\text{m}^3}}{\text{m}^3} = \frac{k_B}{\text{m}^3}$

stim

$$\nu = 3.5 \text{ Hz}: \frac{A_{21}}{B_{21}} \approx 1.67 \cdot 10^{-25} \rightarrow A_{21} \ll B_{21}$$

Licht: $\lambda = 500 \text{ nm}, c = \lambda \cdot \nu$

$$\frac{A_{21}}{B_{21}} \approx 1.33 \cdot 10^{-13} \rightarrow A_{21} \ll B_{21}$$

Röntgen: $E_{\text{ph}} = 206 \text{ eV} = 3.2 \cdot 10^{-25} \text{ J}$

$$\frac{8\pi h \nu^3}{c^3} = \frac{8\pi}{c^3} \frac{h^3 \nu^3}{h^2} \stackrel{E=h\nu}{=} \frac{8\pi}{c^3} E^3 \approx 0.07 \Rightarrow A_{21} < B_{21}$$

③ Poisson-Verteilung: $P_k = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{\mu^k}{k!} e^{-\mu}$ Erwartungswert = Varianz

$$\mu = 3500 \cdot 10^{-4} = 0.35$$

a) höchstens 1 Mutation: $P_{\leq 1} = e^{-\mu} \left(\frac{\mu^0}{0!} + \frac{\mu^1}{1!} \right) = 0.9513$

b) mind. 4: $P_{\geq 4} = 1 - P_{\leq 3} = 0.00047$

c) Fehlerrate: $\frac{250}{3500} \approx 0.0714$ $\mu = 3500 \cdot 0.0714 = 250$

$$\mu = 250$$

Übungsblatt 4

Besprechung: *Donnerstag, 1. 6. 2017 um 9:35 Uhr, Raum 6 - 1*

Aufgabe 1 Lebensdauer und Linienbreite

Sie betrachten ein Ensemble von fluoreszenten Molekülen. Die Lebensdauer eines Moleküls im angeregten Zustand soll 4 ns betragen. Berechnen Sie die Linienbreite $\Delta\omega$ mit Hilfe der Heisenbergschen Unschärferelation $\Delta E \cdot \Delta t \geq \hbar$. Zu Beginn befinden sich alle Moleküle im angeregten Zustand. Nach welcher Zeit sind es nur noch 5% davon?

Aufgabe 2 Frank-Condon-Prinzip

Erläutern Sie das Frank-Condon-Prinzip anhand von Potentialkurven für zwei Elektronenzustände. Wie sieht das zu erwartende Absorptions- und Emissionsspektrum aus?

Aufgabe 3 Porphin

Das Porphin-Molekül ist ein Grundbaustein für wichtige Porphyrin-Komplexe, wie z.B. Häme. Das „Teilchen auf dem Ring“ ist ein quantenmechanisches Modell und ähnelt dem „Teilchen im Kasten“ – Modell. Es kann zur Beschreibung des Elektronensystems und zur Berechnung der Energieniveaus herangezogen werden. Nehmen Sie nun einen Ringumfang von etwa 22 Å an. Das delokalisierte Elektronensystem von Porphin besteht aus insgesamt 18 Elektronen. Zeichnen Sie das Besetzungsschema für die 18 Elektronen und gehen Sie hierbei auf das HOMO und das LUMO ein. Welche Absorptionswellenlänge erwartet man?

Aufgabe 4 Polymerase Chain Reaction

Erklären Sie kurz anhand einer Skizze, wie eine Polymerase-Kettenreaktion funktioniert. Wenn zu Beginn der PCR 30 Kopien der zu vervielfältigenden Doppelhelix vorhanden waren, wie viele Kopien werden dann insgesamt nach 25 Schritten vorhanden sein? Wie viele Stränge unerwünschter Länge wird es nach 25 Schritten geben, und wie ist ihr Verhältnis zur Gesamtzahl an Strängen?

Bei Fragen können Sie sich jederzeit wenden an:

Dr. Gernot Guigas

Institut für Angewandte Physik, AG Nienhaus

Raum: 6 – 11

Telefon 0721 608 47480

Email: gernot.guigas@kit.edu

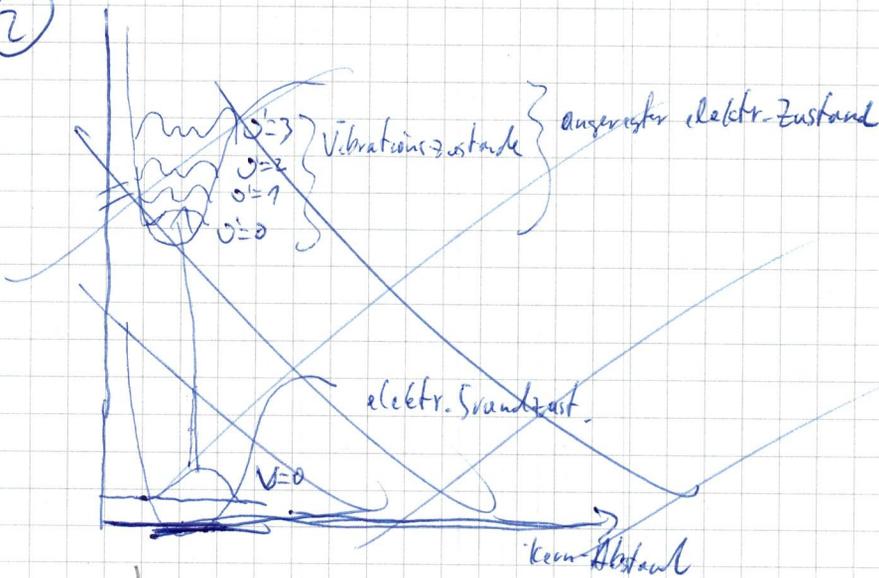
① $\Delta E \cdot \Delta t \geq h$

$E = h \cdot \omega \Rightarrow h \cdot \Delta \omega \cdot \Delta t \geq h \Leftrightarrow \Delta \omega \cdot \Delta t \geq 1 \Leftrightarrow \Delta \omega \geq \frac{1}{\Delta t}$
 $\Rightarrow \Delta \omega \geq \frac{1}{1 \text{ ns}} \Rightarrow \Delta \omega \geq 0,25 \text{ ns}^{-1}$

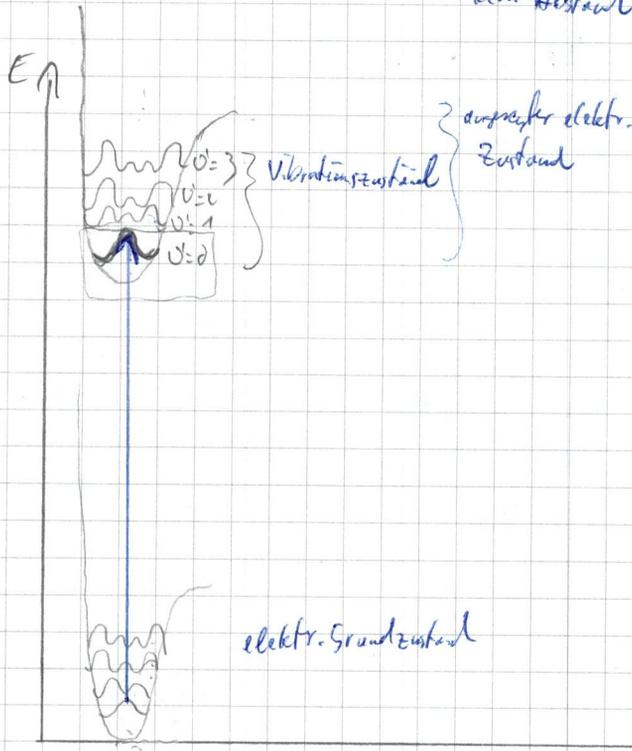
Lebensdauer $\Delta t = 1 \text{ ns}$ $\lambda = \frac{1}{\Delta t} = 0,25 \text{ ns}^{-1}$

$N(t) = N_0 \cdot e^{-\lambda t} \Leftrightarrow \frac{N}{N_0} = e^{-\lambda t} = 0,05 \Leftrightarrow \ln(0,05) = -\lambda t \Leftrightarrow t = \frac{-\ln(0,05)}{0,25 \text{ ns}^{-1}} = 11,98 \text{ ns}$

②

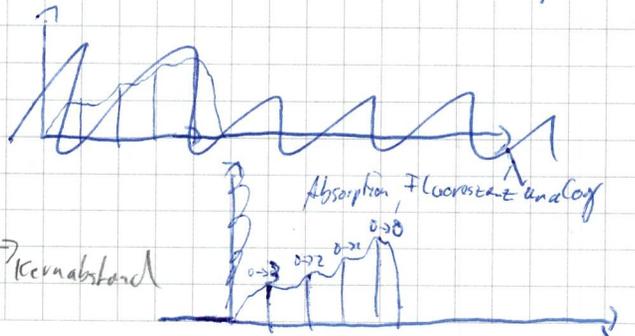


③

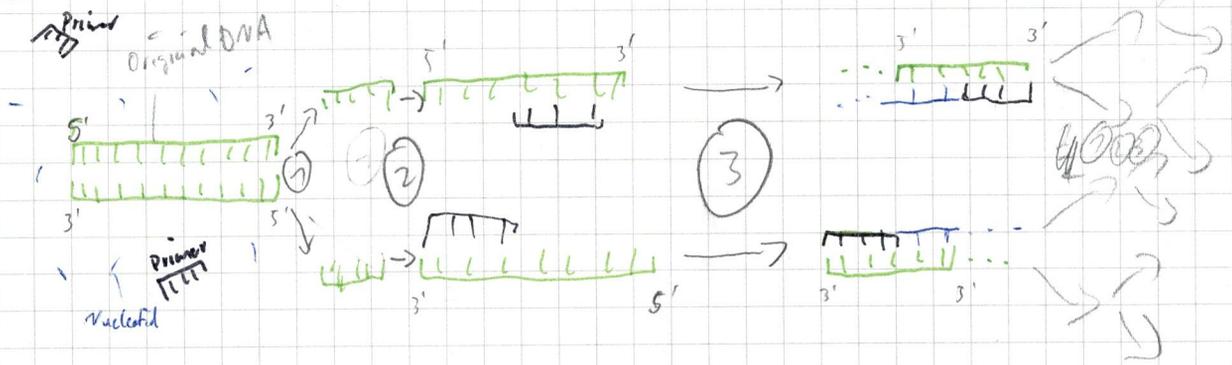


Frank-Condon-Prinzip: Übergang von einem elektr. Zustand in einen anderen ist umso wahrscheinlicher, je mehr die ^{beiden} Vibrationszustände überlappen.
 (Frank-Condon-Faktor wird genau dann groß: $\langle \phi_j^* | \phi_i \rangle d^3R$)

Wenn beide Kurven übereinander liegen:



④ **PCR:** Methode, um DNA in vitro ("in Glas") zu vervielfältigen.



1. Denaturierung: Erhitzen der DNA auf $94^{\circ}\text{--}96^{\circ}\text{C}$ \rightarrow Trennen der Stränge (H-Brücken werden aufgebrochen)

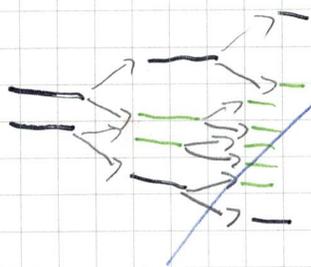
2. Primerhybridisierung: Primer binden an die DNA angelagert. Primer = Startpunkt

3. Elongation: DNA-Polymerase füllt fehlenden Strang mit Nucleotiden auf von $3' \rightarrow 5'$
 \hookrightarrow wächst von neuem

$$N(x) = N_0 \cdot 2^x = 30 \cdot 2^{25} \approx 1,01 \cdot 10^9 \text{ nach 25 Schritten (Doppelstr.)}$$

Es entstehen zu lange Stücke aus der original DNA, da sich das Primer am Start anlegt (davor aber alles nicht reproduziert wird).

Aus einem zu langen Stück entsteht also ein Stück wird also eine Kopie der richtigen Länge hergestellt, die dann wieder als Ausgangsstück zur Verfügung steht.



$$\Rightarrow \text{Lineare Vermehrung: } N(x) = N_0 \cdot x = 30 \cdot 25 = 750$$

$$\text{Verhältnis: } \frac{N_i}{N} \approx 7,45 \cdot 10^{-7}$$

$30 \text{ ds} + 30 \cdot 25 = 780 \text{ ds}$, also 780 single str.



③ Teilchen auf dem Ring

Ringumfang: $2L \overset{\circ}{A} = 22 \cdot 10^{-10} \text{ m}$, $18 e^-$

HOMO: Highest Occupied Molecular Orbital: höchstes besetztes Orbital

LUMO: Lowest Unoccupied Molecular Orbital: niedrigste unbesetzte Orbital

$$V(\rho) = \begin{cases} V_0 & \rho = r \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}$$

~~$\Delta \psi = \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2 \psi}{\partial \varphi^2}$~~ (weil symmetrisch in θ und ρ , sowie $\frac{1}{\sin^2 \theta}$ fällt heraus)

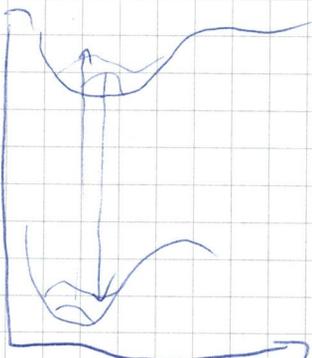
$$H = -\frac{\hbar^2}{2m} \Delta_{\rho} + V_0 \rightarrow H = -\frac{\hbar^2}{2m\rho^2} \frac{\partial^2}{\partial \varphi^2} + V_0$$

$\psi''(\varphi) = -\frac{2m\rho^2}{\hbar^2} (E - V_0) \psi(\varphi)$ Ansatz: $\psi(\varphi) = \alpha e^{im\varphi}$

$$\Rightarrow M = \frac{\sqrt{2m(E - V_0)}}{\hbar} \rho \Rightarrow E_m = \frac{m^2 \hbar^2}{2m\rho^2} + V_0 \quad \psi(\varphi) = \psi(\varphi + 2\pi)$$

$\Rightarrow M$: ganzzahlig

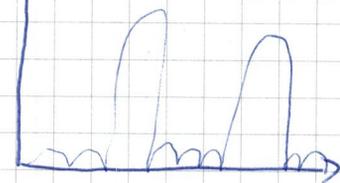
② aus Ü3



kann nur von niedrigstem vibronischen Zustand

abgehert werden, also nur $v' = 0 \rightarrow$ $v = 0$ möglich, $v = 1$, $v = 2$, ...

Grund- \rightarrow ang. $v=0 \rightarrow v'=2$ Grund- \leftarrow ang. $v=2 \rightarrow v'=0$

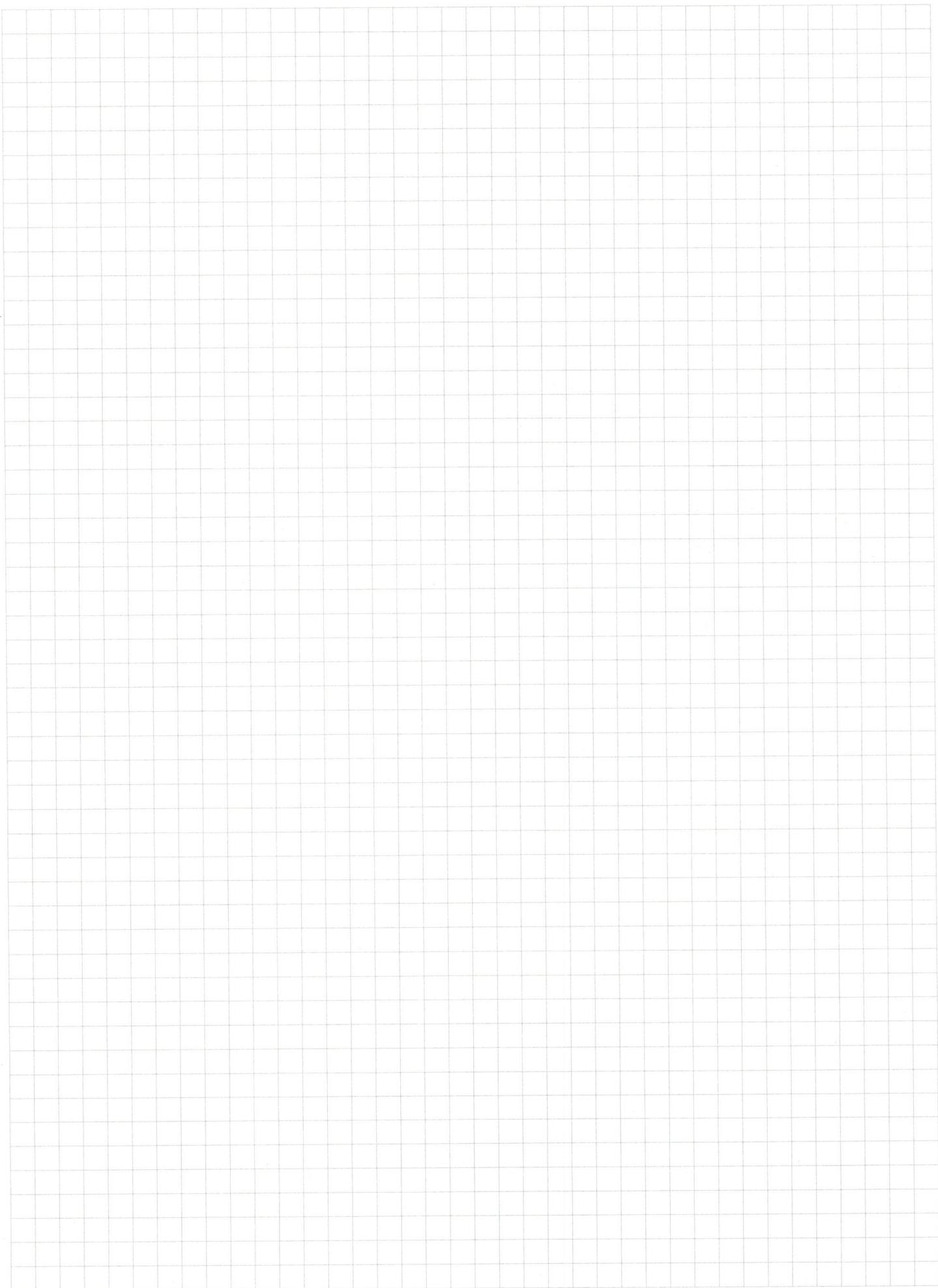


aber $v=0, v=1, v=2, \dots$ $\rightarrow v'=0, v'=1, v'=2, \dots$

M	E	
0	V_0	$\uparrow \downarrow$
± 1	E_1	$\uparrow \downarrow$
± 2	E_2	\vdots
± 3	E_3	\vdots
± 4	E_4	\vdots

} $78 e^-$

$$\rightarrow \Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO} = \frac{\hbar^2}{2m\rho^2} (5^2 - 4^2) \rightarrow \lambda = 440 \text{ nm}$$



Übungsblatt 5

Besprechung: *Donnerstag, 8. 6. 2017 um 9:35 Uhr, Raum 6 - 1*



Aufgabe 1 Lebensdauer

- Zeichnen Sie ein Jablonski-Diagramm für einen Fluorophor mit den elektronischen Zuständen S_0, S_1, T_1 und erklären Sie die möglichen Übergänge.
- In der Vorlesung wurde die Quantenausbeute Φ_F der Fluoreszenz in Abhängigkeit von den Ratenkoeffizienten aller möglichen Übergangsprozesse definiert. Wie können die Quantenausbeuten des Triplettübergangs Φ_T und der Phosphoreszenz Φ_P definiert werden?
- Gegeben seien $\Phi_F = 0.003$ und $\Phi_T = 0.04$ sowie der Ratenkoeffizient der Fluoreszenz $k_R = 5 \cdot 10^7$ /s. Berechnen Sie die Übergangsrate der inneren Konversion k_{IC} , wenn diese in Konkurrenz zu Fluoreszenz und Triplettübergang stattfindet.

Aufgabe 2 Quantum Dots

Quantenpunkte sind fluoreszierende Halbleiterkristalle. Ihre Exzitonenergie ist gegeben durch

$$E = E_g + \frac{2\pi^2 \hbar^2}{m_0 L^2} \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \frac{1.8e^2}{2\pi \epsilon_0 \epsilon_\infty L}$$

Hierbei ist $E_g = 1.74$ eV (CdSe bei 300 K) die Bandlücke. Der zweite Term ist die Einschlussenergie eines Elektron-Loch-Paars im Quantenpunkt mit den effektiven Massen eines Elektrons $m_e^* = 0.13$ und eines Lochs $m_h^* = 0.45$. Der dritte Term ist ein Korrekturfaktor für die Coulomb-Wechselwirkung zwischen Elektron und Loch mit $\epsilon_\infty = 9.5$.

Sie wollen Quantenpunkte mit einer Emissionswellenlänge von 516 nm herstellen. Berechnen Sie den Durchmesser L der Quantenpunkte.

Aufgabe 3 Fluoreszenz

Einige Begriffe der Fluoreszenz, die man kennen sollte, sind:

- ✓ a) Quenching
- b) Bleaching
- c) Brightness
- d) Quantenausbeute

Machen Sie sich mit diesen Begriffen vertraut und erläutern Sie, was man unter ihnen versteht.

Aufgabe 4 Quenching

Bei einem Experiment zur Fluoreszenzlöschung von Tryptophan mit Sauerstoff ergeben sich folgende Messwerte:

Sauerstoffkonzentration [M]	Fluoreszenzintensität [a.u.]	F_0/F	$F_0/F - 1$
0.00	1.00	1	
0.02	0.60	1,67	0,67
0.05	0.38	2,63	1,63
0.08	0.28	3,57	2,57
0.10	0.23	4,35	3,35

- ✓ a) Zeichnen Sie anhand der Daten das dazugehörige Stern-Volmer-Diagramm.
- ✓ b) Berechnen Sie die Stern-Volmer-Konstante (also die Proportionalitätskonstante von $\frac{F_0}{F}$ mit der Quencherkonzentration [Q]).
- ✓ c) Bei welcher Sauerstoffkonzentration sind 50% der Fluoreszenz gequencht?
- d) Wie können Sie feststellen, ob statisches oder dynamisches Quenchen vorliegt?

Bei Fragen können Sie sich jederzeit wenden an:

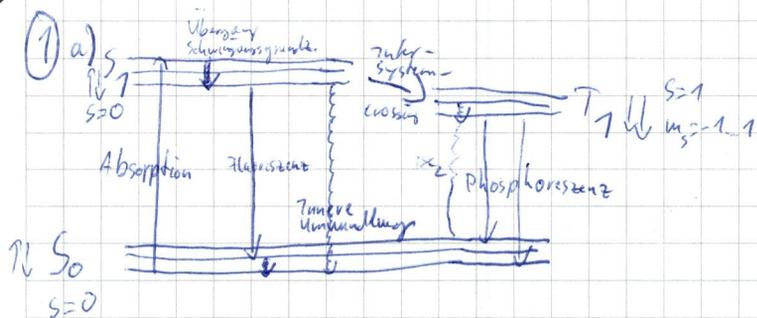
Dr. Gernot Guigas

Institut für Angewandte Physik, AG Nienhaus

Raum: 6 – 11

Telefon 0721 608 47480

Email: gernot.guigas@kit.edu



S_1^i heißt, ein vibronisch angeregter Zustand im 1. angeregten elektronischen Niveau. S_1 ist vibronischer Grundzustand

Absorption: Durch ein Photon passender Frequenz: ~~Elektronen~~ Übergang von

S_0 nach S_1^i , $\Delta S=0$, gemäß Franck-Condon-Prinzip

Übergang in den Schwingungsgrundzustand: $S_1^i \rightarrow S_1$, durch Kopplung mit anderen Schwingungsfreiheitsgraden (Umgebung wird warm); analog: $S_0^i \rightarrow S_0$

Fluoreszenz: Übergang $S_1 \rightarrow S_0^i$ unter Abgabe eines Photons, spontane Emission, 10^{-10} bis 10^{-8} s

Interne Umwandlung / Konversion: Übergang $S_1 \rightarrow S_0$ ohne Photoemission. Energie wird in Schwingungsenergie umgewandelt

Phosphoreszenz: Spinflip $\Delta S=1$ in Tripletzustand, $S_1 \rightarrow T_1$, verliert Energie gemäß Hund'sche Regel

Phosphoreszenz: Spinflip $\Delta S=1$, $T_1 \rightarrow S_0$, (verbotener Übergang), lange Lebensdauern, 10^{-2} bis 10^2 s, Emission nach Ausschalten der Lichtquelle noch sichtbar.

b) $\phi_F = \frac{k_R}{k_F}$ $k_R = \frac{1}{\tau_R}$, index R: 'radiativ'

$k_F = k_R + k_{ic} + k_{is} + k_q$
internat. conversion intersystem crossing quenching

Nach intersystem crossing 2 Prozesse möglich: Phosphoreszenz oder internal conversion

$\Rightarrow k_{is} = k_{is,ic} + k_{is,R}$

$\Rightarrow \phi_{\text{Phosph.}} = \frac{k_{is,R}}{k_F} = \frac{k_{is,R}}{k_R + k_{ic} + k_{is} + k_q}$ was übrig = $\phi_p = \phi_{isc} \cdot \frac{k_p}{k_{isc} + k_p}$

$\Rightarrow \phi_{\text{Triplet}} = \frac{k_{is}}{k_F}$

$$\textcircled{1} c) \quad \phi_T = 0,003 \quad k_R = 5 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$$

$$\phi_T = 0,04$$

$$\phi_T = \frac{k_R}{k_F} \quad (I) \quad \phi_T = \frac{k_{is}}{k_F} \quad (II) \quad k_F = k_R + k_{is} + k_{ic} \quad (III)$$

$$(I) \rightarrow k_F = \frac{k_R}{\phi_T} \quad \text{in (II)} \quad \phi_T = \frac{k_{is}}{k_R} \cdot \phi_T \quad (IV)$$

$$\text{(HIER) (I) in (III):} \quad k_R \frac{k_R}{\phi_T} = k_R + k_{is} + k_{ic} \quad \Leftrightarrow \quad k_{is} = \frac{k_R}{\phi_T} - k_R - k_{ic} \quad (V)$$

$$(V) \text{ in (IV)} \quad \phi_T = \left(\frac{k_R}{\phi_T} - k_R - k_{ic} \right) \cdot \frac{\phi_T}{k_R}$$

$$\Leftrightarrow \phi_T \cdot \frac{k_R}{\phi_T} = \frac{k_R}{\phi_T} - k_R - k_{ic} \quad \Leftrightarrow \quad -\phi_T \cdot \frac{k_R}{\phi_T} + \frac{k_R}{\phi_T} - k_R = +k_{ic}$$

$$\Rightarrow k_{ic} = -\frac{\phi_T}{\phi_T} k_R + \frac{k_R}{\phi_T} - k_R = k_R \left(-\frac{\phi_T}{\phi_T} + \frac{1}{\phi_T} - 1 \right) = 1,60 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1}$$

$$\textcircled{1} c) \quad \phi_T = 0,003 \quad k_R = 5 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$$

$$\phi_T = 0,04$$

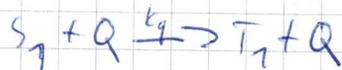
$$\phi_T = \frac{k_R}{k_F} \quad \Leftrightarrow \quad k_F = \frac{k_R}{\phi_T} = 0,16 \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}$$

$$\phi_T = \frac{k_{is}}{k_F} \quad \Leftrightarrow \quad k_{is} = \phi_T \cdot k_F = 0,16 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$$

$$k_{ic} = k_F - k_R - k_{is} = \frac{k_R}{\phi_T} - k_R - \phi_T \cdot \frac{k_R}{\phi_T} \approx 1,60 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1} \quad (\text{genau: } 1,595 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1})$$

3 a) Quenching (Löschung):

- dynamisches oder collisionsquenching: gewisse Moleküle oder Ionen (Q) konvertieren den Singulett S_1 Zustand in einen Triplett T_1 -Zustand:



- statisches quenching: Quenchemolekül geht einen nicht fluoreszierenden Komplex mit fluoreszierendem Molekül (F) ein: $F + Q$



b) Bleaching: permanenter Verlust der Fluoreszenz eines Fluorophors durch die Bestrahlung mit Anregungslicht. (photochem. Zerstörung)

c) Brightness:
$$\text{Brightness} = \frac{\text{molar extinction coeff.} \cdot \text{Quantum Yield}}{1000}$$

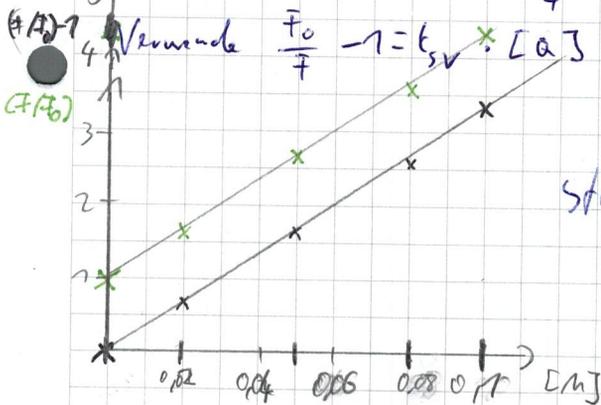
Absorptionskoeffizient = $\frac{\# \text{ photons emitted}}{\# \text{ photons absorbed}}$ = Quantenausbeute

Maß für Helligkeit.

d) Quantenausbeute = Quantum Yield, siehe c)

e) Stern-Volmer-Gl: $\frac{F_0}{F} = 1 + k_{sv} \cdot [Q]$ F_0 : ungequenchte Intensität

Verwende $\frac{F_0}{F} - 1 = k_{sv} \cdot [Q]$ (weil dann einfach linear) F : gequenchte Intensität bei Konzentration $[Q]$, k_{sv} : Stern-Volmer-Konstante



Linearer Fit (grün Punkte): $k_{sv} = 33,0 \pm 0,6$ bzw $\frac{F_0}{F}$

$$\frac{F_0}{F} = \frac{1}{0,5} = 2 \Rightarrow 2 = 1 + k_{sv} \cdot [Q] \Leftrightarrow 1 = k_{sv} \cdot [Q] \Rightarrow [Q] = \frac{1}{33} \approx 0,03$$

d) dynamisches Quenchen: hohe Temp \rightarrow höheres Quenchen, also $T \uparrow \rightarrow k_{sv} \uparrow$
statisches " " \rightarrow niedrigeres " , also $T \uparrow \rightarrow k_{sv} \downarrow$

(2) siehe Monius
L2k, 35 min

Übungsblatt 6

Besprechung: *Donnerstag, 22. 6. 2017 um 9:35 Uhr, Raum 6 - 1*

Aufgabe 1 FRET

- Was versteht man unter „Förster-Resonanz-Energietransfer“?
- Wofür wird FRET eingesetzt?
- Erläutern Sie den Begriff „Förster-Radius“.
- Das Donor-Akzeptor-Paar Pyrene und Cumarin hat einen Försterradius von 3.9 nm. Die Quantenausbeute des Donors alleine liegt bei 0.77. In einer Probe mit zwei interagierenden Proteinen, von denen das eine mit Pyrene und das andere mit Cumarin markiert ist, wird eine Quantenausbeute des Donors von 0.65 gemessen. Wie weit sind Donor und Akzeptor voneinander entfernt?

Aufgabe 2 Fluoreszenz-Lebensdauer und FRET

- Wie ist ein Experiment zur Messung der Fluoreszenzlebensdauer mittels Einzelphotonenzählung aufgebaut? Welchen Anforderungen muss der Anregungslaser genügen?
- Warum ist eine Bestimmung von FRET-Effizienzen über die Messung von Lebensdauern möglich? Welchen Vorteil hat diese Methode gegenüber einer Bestimmung über die Messung von Intensitäten?

Aufgabe 3 FRET-Orientierungsfaktor

Wie hängt der Försterradius von der räumlichen Ausrichtung eines Donors und eines Akzeptors zueinander ab? Erklären Sie den Orientierungsfaktor κ^2 und zeigen Sie, für welche Ausrichtungen er die Werte 0, 1 und 4 annimmt.

Aufgabe 4 FRET mit PIE

In einem FRET-Experiment müssen die Intensitäten des Fluoreszenzlichts von Donor und Akzeptor separat detektiert werden. Durch den Einsatz eines Strahlteilers sowie zweier Filter können die Intensitäten spektral getrennt von zwei Detektoren registriert werden. Experimentell treten dabei jedoch Probleme auf. Zum einen können die Spektren der eingesetzten Fluorophore überlappen, was zu Übersprechen in den Detektionskanälen führt. Zum anderen sind in der Praxis nicht alle zu untersuchenden Proben mit Donor und Akzeptor ausgestattet. Ist nur ein Donor anwesend, so scheint es, als wäre der Akzeptor sehr weit entfernt. Mit der Methode PIE (*pulsed interleaved excitation*) können diese Probleme elegant gelöst werden.

- a) Erläutern Sie die Funktionsweise von PIE.
- b) Zeichnen Sie die Signale, die Sie im Donor- und im Akzeptor-Kanal in folgenden Situationen erwarten würden: D-A-Paar mit kleinem Abstand, D-A-Paar mit großem Abstand, nur D ohne A vorhanden.

Bei Fragen können Sie sich jederzeit wenden an:

Dr. Gernot Guigas

Institut für Angewandte Physik, AG Nienhaus

Raum: 6 – 11

Telefon 0721 608 47480

Email: gernot.guigas@kit.edu

① a) P: mit linear polarisiertem Licht angeregte Fluorophore strahlen ebenfalls polarisiertes Licht ab

$$P = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + I_{\perp}}$$

$$A = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{S}$$

$$S = I_{\parallel} + 2 I_{\perp}$$

I_{\parallel} : parallel zur Licht Anregung u. Abstrahlungslicht

Von Fluorophore werden bevorzugt angeregt, deren Absorptionsübergangsmoment parallel zum \vec{E} ist.
 (2) Emission bevorzugt polarisiertes Licht mit $\vec{E} \parallel$ Emissionsübergangsmoment.

3/5 der Intensität \perp in x und 2/5 \perp in y-Richtung

b) $P = \frac{1}{2}$; $A = \frac{2}{5}$, da alle Fluorophore starr und nicht drehbar, sowie kein Winkel zw. Übergangsdipolen.

statische Probe: $P_0 = \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{\cos^2 \theta + 3}$

Bei Winkel: $-\frac{1}{3} < P < \frac{1}{2}$ und $-\frac{1}{5} < A < \frac{2}{5}$

$$A_0 = \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{5}$$

c) Moleküle können rotieren \rightarrow Depolarisation

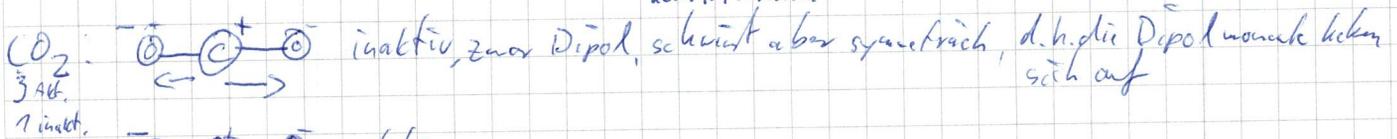
rotieren sehr schnell wenn nur Fluorophore in Lösung

d) Die Rotationsbewegung kann bestimmt werden:

$$\frac{A_0}{A} = 1 + \frac{\tau_{rot}}{\tau_{fluor}}$$

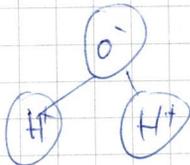
$$\tau_{rot} = \frac{V \eta}{RT}$$

② S. 234



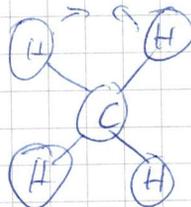
widem. cup.uni-muenchen.de / w wib

H_2O : 3 akt.



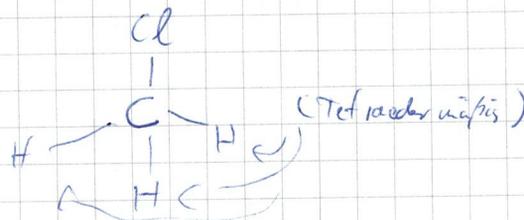
siehe der 3 schwingen hat eine andere Frequenz!

CH_4 : 9 akt., 3 inakt.



immer aktiv wenn Dipolmomente sich nicht aufh.
 6 aktiv
 3 inaktiv

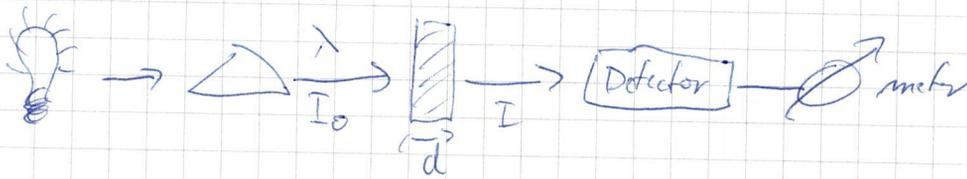
CH_3Cl : 9 akt., 1 inakt.



immer aktiv außer



⊕ dispersiv:



monochromatisierung mit Prisma oder Gitter (viel Intensität geht verloren)

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-\epsilon x d}$$

mit ϵ : Extinktionskoeffizient

Nachteil: starke Umgebungsabhängigkeit im IR-Bereich

Vorteil: sehr einfach

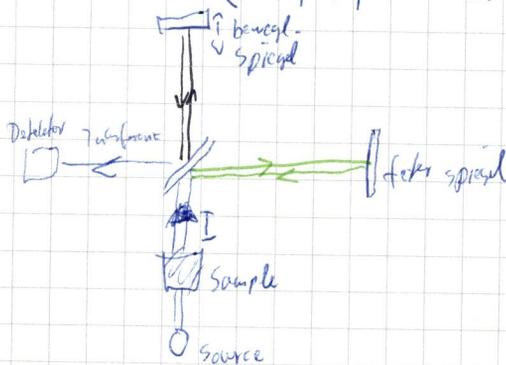
Fourier-Transformations-IR-Spektrometer

Vorteile 1) alle Frequenzen gleichzeitig gemessen

2) maximale Intensitätsausnutzung

3) hohe Frequenzstabilität (da Spiegelposition mit Referenzlaser bestimmt wird)

Grundoptik:



Einmal Messung ohne, einmal mit. Aus Messung von $I(x)$ (x ist Position des Spiegels) kann durch Fourier-Transformation das Spektrum berechnet werden.

b)



Totalreflexion an Grenzfläche. Wellen dringen aber trotz Totalreflexion in Probe ein und werden dort abgeschwächt. Durch geringe Penetrationslänge ($\sim 1 \mu\text{m}$) hat das Wasser oben drüber keinen Einfluss

Die Eindringtiefe hängt von Wellenlänge ab, aber Spektrum ^{etwas} anders als bei a)

② Messung in der Frequenzdomäne:

Es wird Licht mit Modulation in der Intensität $E(t)$ auf die Probe eingestrahlt. Durch die Probe tritt eine Phasenverschiebung durch das Fluorophor auf.

$$F(t) = X(\omega) E(t)$$

①

b) Modul.-Frequenz 10 MHz

Phasendifferenz 25° bzw. $25 \cdot \frac{2\pi}{360} = \frac{25\pi}{180} = \frac{5}{36}\pi$

$\varphi(\omega) = \arctan(\omega\tau)$ bzw. $\tan(\varphi(\omega)) = \omega\tau \Leftrightarrow \tau = \frac{\tan(\varphi(\omega))}{\omega}$

mit φ : Phasendiff.
 ω : Modulationsfrequenz
 τ : Lebensdauer

Größenordnung von $\omega \approx \frac{1}{\tau}$

$$= \frac{\tan\left(\frac{5\pi}{36}\right)}{10 \cdot 10^6 \text{ Hz}} = \frac{4,86 \cdot 10^{-9} \text{ s}}{10 \cdot 10^6 \text{ Hz}} = 4,86 \text{ ns}$$

oder $\tau = \frac{\tan \varphi}{\omega} = 7,42 \text{ ns}$

τ kann auch aus der Intensität berechnet werden

Amplitude Anregung: AC_{Ex}
 " Emission: AC_{Em}

$$M = \frac{AC_{Em}}{AC_{Ex}} = \frac{1}{\sqrt{1 + \omega^2 \tau^2}}$$

τ_p : berechnet aus Modul.

τ_m : berechnet aus Intens.

Unsere App für ein einfacheres Studium:
Hol sie dir jetzt auf www.bloxxboard.com

Übungsblatt 8

Besprechung: *Donnerstag, 6. 7. 2017 um 9:35 Uhr, Raum 6 - 1*

Aufgabe 1 Fourier-Transformation

Berechnen Sie die Fourier-Transformation für

- ein exponentiell abfallendes Signal (Start bei $t=0$).
- ein Rechtecksignal (Start bei $t = -1/2$, Ende bei $t=1/2$).
- ein Gaussförmiges Signal.

Aufgabe 2 Raman-Streuung

- Erklären Sie das Prinzip der Raman-Streuung und nennen Sie mögliche Anwendungen.
- Bei der Raman-Streuung werden Phononen emittiert (Stokes) bzw. absorbiert (Anti-Stokes). Formulieren Sie für diesen Streuprozess die Erhaltungssätze für Energie und Impuls. Zeigen Sie weiterhin, dass für die Wellenlänge des Lichts λ_0 und des Phonons λ_q der Zusammenhang $\lambda_0 = 2 \lambda_q \sin(\frac{\theta}{2})$ besteht. Dabei ist θ der Winkel zwischen Einfallsv- und Streuvektor \vec{k}_0 und \vec{k}_1 . Hinweis: Die Wellenlänge des Lichts ist sehr viel kleiner als die des Photons, daher ist $\vec{k}_0 \approx \vec{k}_1$.

Aufgabe 3 Raman-Spektroskopie

Welche der folgenden Moleküle zeigen ein Raman-Spektrum?

H_2 , HCl, CO_2 , H_2O , CH_4 , CH_3Cl

Begründen Sie Ihre Ergebnisse kurz.

Aufgabe 4 Resonanz-Raman

Was unterscheidet Resonanz-Raman von herkömmlicher Raman-Streuung? Was unterscheidet Resonanz-Raman-Licht von Fluoreszenzlicht?

Bei Fragen können Sie sich jederzeit wenden an:

Dr. Gernot Guigas

Institut für Angewandte Physik, AG Nienhaus

Raum: 6 – 11

Telefon 0721 608 47480

Email: gernot.guigas@kit.edu

② Resonanz-Raman

Raman streuung: inelastische streuung von licht an Atomen / Molekülen

→ λ_{emitt} > oder < λ_{einfall}

Wirkungsquerschnitt $\sigma_{\text{Raman}} \ll \sigma_{\text{Rayleigh (elastisch)}}$

WW zwischen Photon und Molekül: Energieübertrag in Rotations- / Schwingungsenergie des Moleküls bzw. Kristallgitter

Resonanz-Raman:

Streuereffizienz wird um 2-6 Größenordnungen erhöht, wenn λ_{Photon} resonant ist mit elektr. Übergang im Molekül

AD

Unterschied zur Fluoreszenz: Bei Fluoreszenz muss das Photon resonant zum Übergang sein und wird mit gleicher oder kleinerer Energie wieder abgegeben.

Bei Resonanz-Raman tritt ein ~~Fluor~~ das komplette Raman spektrum auf, mit höherer Intensität bei den Resonanz-Raman-Linien.

Außerdem viel kürzere Lebensdauer (neg. virtuellen Zuständen) bei Raman.

③

H₂: Raman aktiv

Raman-aktiv: Polarisierbarkeit ändert sich

HCl: Raman aktiv

Polarisierbarkeit: Maß für Verschiebbarkeit von

CO₂: $\overset{\ominus}{\text{O}}=\overset{\oplus}{\text{C}}=\overset{\ominus}{\text{O}}$ IR-aktiv, $\overset{\oplus}{\text{O}} \uparrow$ Raman

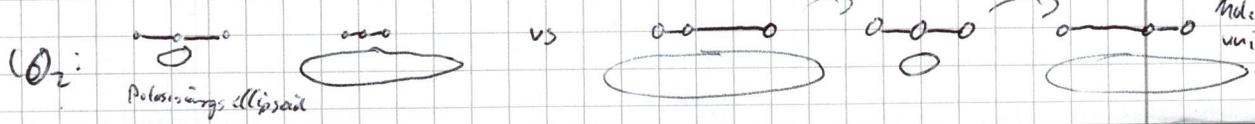
positiv zu negativ Ladung bei E-Feld

H₂O: Raman + IR aktiv

Vom Tutor: Polarisierbarkeit muss in den Extremzuständen der Schwingung unterschiedlich sein

CH₄: Raman aktiv (3); Raman + IR (6)

CH₃Cl: Raman + IR (8), nicht aktiv (1)



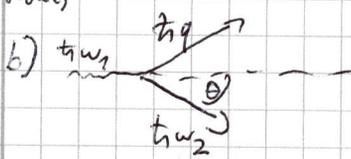
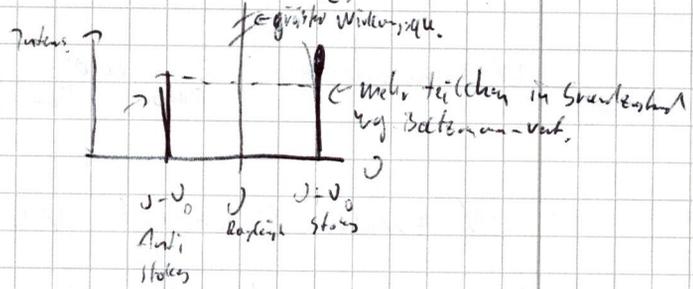
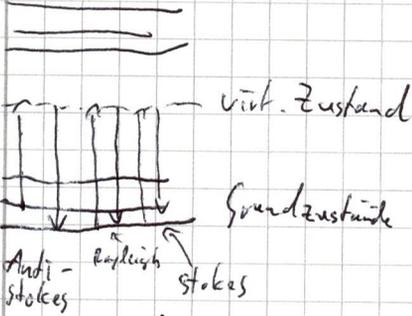
Siehe geschnitten Pol. ellips. und dann VL Molekülphys. uni-leipzig

② a) Raman Streuung: inelastische Streuung von Licht an Atomen + Molekülen

Stokes-Streuung: Energieübertrag Photon \rightarrow Molekül

$$\rightarrow \nu_{Ph} > \nu'_{Ph} \text{ und } E_{molek.} < E'_{molek.}$$

Anti-Stokes-Streuung: $\nu_{Ph} < \nu'_{Ph}$ ($\nu_{Ph} < \nu'_{Ph}$) und $E_{molek.} > E'_{molek.}$



q: impuls

$$E_{Ph,0} = E_{Ph,2} - E_{Phonon}$$

$$E: h\nu_1 = h\nu_2 - h\nu_q$$

$$\text{Imp: } h\vec{k}_0 = h\vec{k}_2 - h\vec{q}$$

$$\vec{k}_0 = \vec{k}_2 + \vec{q}$$

$$h\vec{q} = h\vec{k}_0 + h\vec{k}_1$$

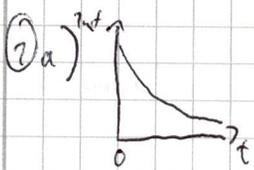
$$q^2 = k_0^2 + k_1^2 - 2k_0 k_1 \cos \theta \quad k_0 \approx k_1 \text{ (aus Aufgabenteil.)}$$

$$= 2k_0^2 - 2k_0^2 \cos \theta$$

$$q = 2k_0^2 (1 - \cos \theta) = 4k_0^2 \sin^2 \left(\frac{\theta}{2} \right)$$

$$q = 2k_0 \sin \left(\frac{\theta}{2} \right) \quad \text{mit } k_0 = \frac{2\pi}{\lambda_0} \quad \text{und } q = \frac{2\pi}{\lambda_q}$$

$$\Rightarrow \lambda_0 = 2\lambda_q \sin \left(\frac{\theta}{2} \right)$$

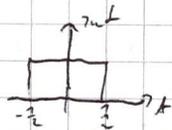


$$F(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int f(x) e^{-itx} dx; \quad f(x) = e^{-x} \theta(x)$$

$$F(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^{\infty} e^{-x} \theta(x) e^{-itx} dx = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^{\infty} e^{-x(1+it)} dx$$

$$= \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{1+it} \left[e^{-x(1+it)} \right]_0^{\infty} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{1+it}$$

b) Rechteck:



$$g(x) = \theta(x + \frac{1}{2}) \theta(x - \frac{1}{2})$$

$$\Rightarrow F_g(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-1/2}^{1/2} e^{-itx} dx = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{-it} \left(e^{-it \cdot \frac{1}{2}} - e^{-it \cdot (-\frac{1}{2})} \right) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{2}{t} \sin \left(\frac{t}{2} \right)$$

~~$$c) F_h(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int e^{-x^2} e^{-itx} dx = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{4}} \int e^{-(x + \frac{it}{2})^2} dx$$~~

$$h(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\frac{x^2}{\sigma^2}}$$

$$\mathcal{F}(f) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\frac{x^2}{\sigma^2}} e^{-itx} dx$$

$t \rightarrow x$
 $\omega \rightarrow t$

$$h(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-\frac{1}{2}\frac{x^2}{\sigma^2} - itx} dx$$

$\underbrace{\hspace{10em}}_{-a^2} \quad \underbrace{\hspace{10em}}_{-2ab}$

Exponent erweitern: $-a^2 - 2ab = -a^2 - 2ab - b^2 + b^2 = -(a+b)^2 + b^2$

setze $\frac{x}{\sqrt{2}\sigma} = a$ und $itx = 2ab \Rightarrow b^2 = -\frac{\omega^2\sigma^2}{2}$

\Rightarrow Exponent: $-\frac{1}{2}\frac{x^2}{\sigma^2} - itx = -\left(\frac{x}{\sqrt{2}\sigma} + \frac{it\sigma}{\sqrt{2}}\right)^2 - \frac{t^2\sigma^2}{2}$

substitution $\frac{x}{\sqrt{2}\sigma} + \frac{it\sigma}{\sqrt{2}} = z$

$$\frac{dz}{dx} = \frac{1}{\sqrt{2}\sigma} \Rightarrow dx = \sqrt{2}\sigma dz$$

$$\Rightarrow \mathcal{G}(it\sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2\sigma^2}{2}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-z^2} dz \sqrt{2}\sigma$$

$$\Rightarrow \mathcal{G}(f) = \frac{1}{\sqrt{\pi}} e^{-\frac{t^2\sigma^2}{2}} \sqrt{\pi} \Rightarrow \mathcal{G}(f) = e^{-\frac{1}{2}t^2\sigma^2}$$

Fourier-Transf. von Gausskurve mit Stand.abw. σ gibt

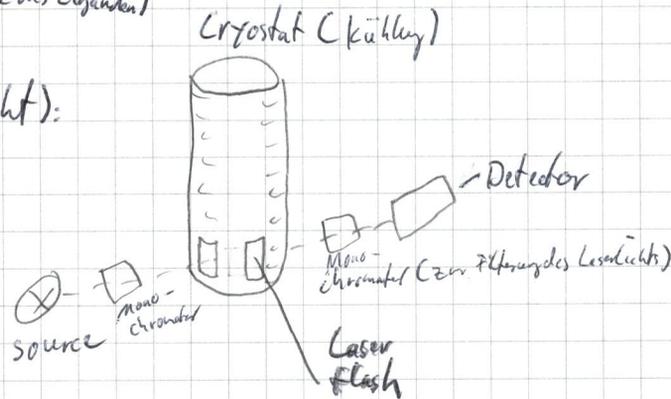
Gauss mit Stand.-ab. $\frac{1}{\sigma}$

[Faint, illegible handwriting on graph paper]

① Die Blitzphotolyse eignet sich, um Auskunft über die Kinetik der Rückbindung des Liganden zu bekommen.

Außerdem: Multipuls-Experiment, um herauszufinden, ob ein inhomogenes ^(versch. strukturelle Zustände) oder homogenes Ensemble (versch. Konformationen des Liganden)

Versuchsaufbau (vereinfacht):



Mit Hilfe von schwacher Lichtquelle (die möglichst wenig Photolyse (= durch Licht ausgelöste Spaltung einer chem. Bindung) macht) wird Absorption gemessen.

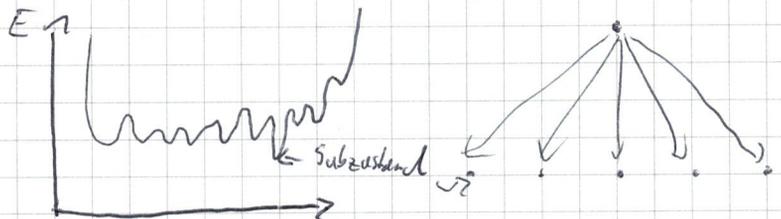
~~Laser einset~~ Laser-Puls → Photolyse → Absorptionsänderung

Nach Puls: Rückbindung → Absorptionsänderung in umgekehrte Richtung zu
→ Aufnahme der Rückbindung über viele Zeit-Größenordnungen

$$E_{ges} = E_{\text{elektr. Anreg.}} + E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}} + E_{\text{Konformations-Änssi}}$$

E_{conf} beschreibt, dass Proteine mit identischen Sequenzen verschiedene interne Energien haben können.

Molekülzustände haben viele Subzustände.



b) Bei hohen Temp. treten viele Fluktuationen zwischen den Konformationszuständen auf

Bei tiefen Temp. → statische Verteilung der besetzten Zustände → nicht mehr exponentiell, da ein inhomogenes Ensemble vorliegt (die Rückbindung verläuft untersch. schnell)

außerdem: (E) kann Myoglobin nicht verlassen → stärkere Rückbindung

$$\textcircled{3} \quad N_A = 0,615$$

$$N_B = 0,385$$

$$1 = N_A + N_B$$

$$N(A) = e^{-K_{BA} t}$$

$$k_{BA} = \Delta_{BA} \frac{1}{T_0} e^{-\frac{H_{BA}}{RT}}$$

$$\text{SSW: } N_A k_{AB} = N_B k_{BA} \rightarrow \frac{N_B}{N_A} = \frac{k_{AB}}{k_{BA}} = t = 0,625$$

$$k = e^{-\frac{0,9}{RT}}$$

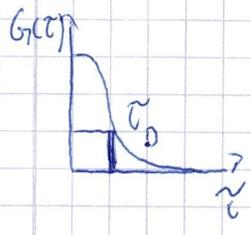
$$T = 295 \text{ K}$$

$$R = 8,314 \frac{\text{J}}{\text{K}}$$

$$\Delta G_1 = -RT \ln(k) = 1149,97$$

2 a)

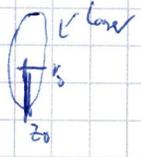
$$G(\xi) = \frac{\delta F(t) \delta F(t+\xi)}{\langle F(t) \rangle^2}$$



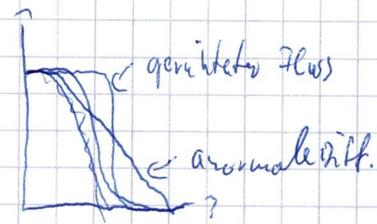
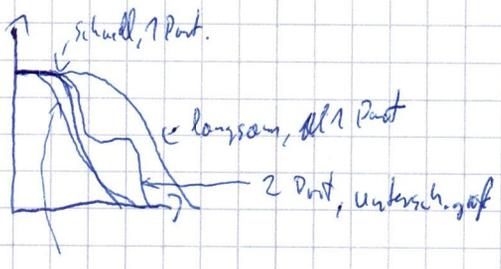
$$\xi_D = \frac{v_0^2}{4D}$$

↑
v₀

$$G(\xi) = \frac{1}{\langle N \rangle} \cdot \frac{1}{(1 + \frac{\xi}{\xi_D})} \cdot \frac{1}{\sqrt{4(\frac{v_0}{2v_0})^2 \frac{\xi}{\xi_D}}}$$

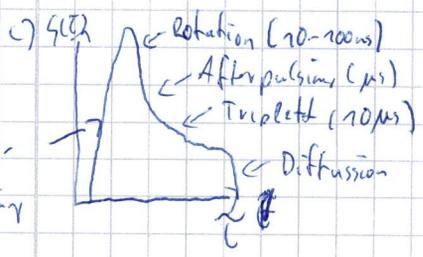


Wickentitel (Engl.)



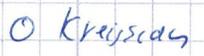
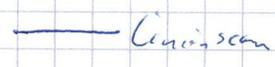
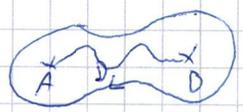
2 Punkt, ca. gleich groß

Anti-branching (ns)



d) Konz. im nm-Bereich, damit δF Background überwiegt

3 a)



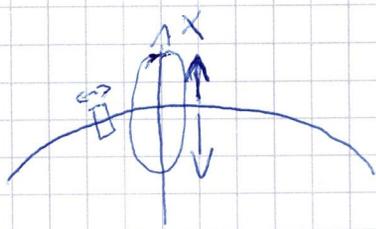
Bezug zu Folie

$$G(\xi, \eta) = \frac{\delta F(x, y) \delta F(x+\xi, y+\eta)}{\langle F(x, y) \rangle^2}$$

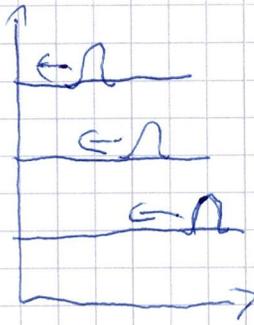
+beord: $G(\xi, \eta, \sigma_x, \sigma_y, \tau_p, \tau_x, D, v)$

σ_x, σ_y = Pixelgröße, τ_p : Pixelverweilzeit, τ_x : Lumenzeit

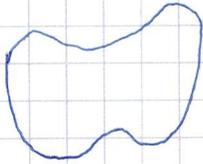
b)



Linsscanning - FCS



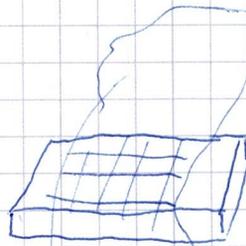
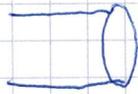
c)



Diffusionskarte durch Lichtblatt - Mikroskopie

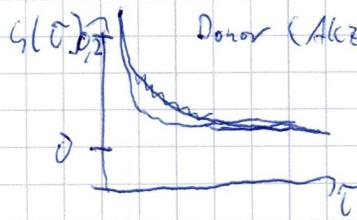
← Detektorobjektiv → Kamera Kamera

nicht prüfungsbekannt
wahrsch.



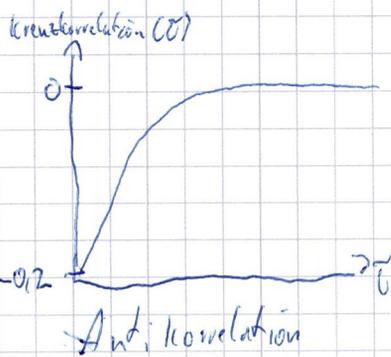
Korrelation der Einzelpixel Fluoreszenz

d) Kreuzkorrelation



Donor (Akzeptor ähnlich)

Grund für Abfall: offenes u. geschlossenes



Paper wird rumgeschickt, Herleitung kennen