



Circular dichroismus

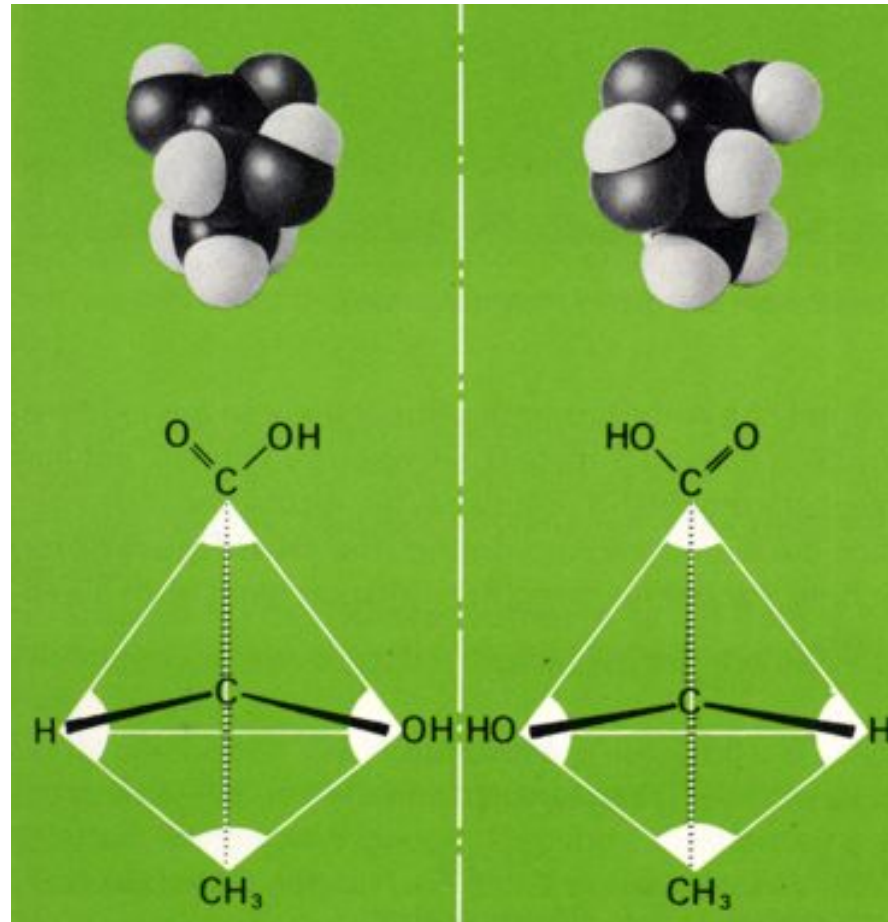
Gliederung:

- Chiralität
- Physikalische Grundlagen chiraloptischer Methoden: Circular dichroismus (CD), Polarimetrie, optische Rotationsdispersion (ORD)
- Instrumentierung
- Anwendungen: Sekundärstrukturanalyse von Peptiden / Proteinen, Verfolgung von Konformationsänderungen
- Probenvorbereitung und optimale Messbedingungen

Spezielle CD-Technik:

- Orientierte CD-Spektroskopie
- Messprinzip und Anwendung

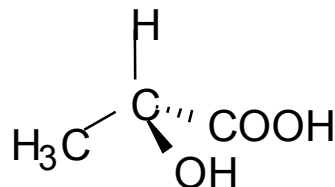
Chiralität



Die Eigenschaft eines Moleküls, mit seinem Spiegelbild durch Drehung nicht in Deckung gebracht werden zu können, heißt **Chiralität**.

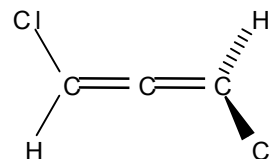
Verschiedene Erscheinungsformen der Chiralität

- Zentrale Chiralität



4 verschiedene Substituenten
an einem C-Atom

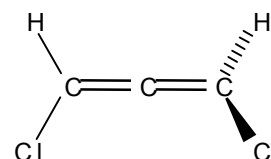
- Axiale Chiralität



σ —————

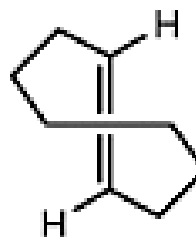
1,3-Dichlorallen

4 Substituenten paarweise um Achse
angeordnet, liegen nicht in einer Ebene

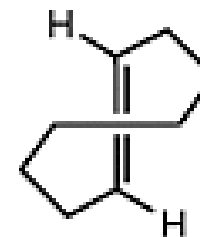


- Planare Chiralität

Chiralitätsebene teilt Molekül
in unterschiedliche Seiten



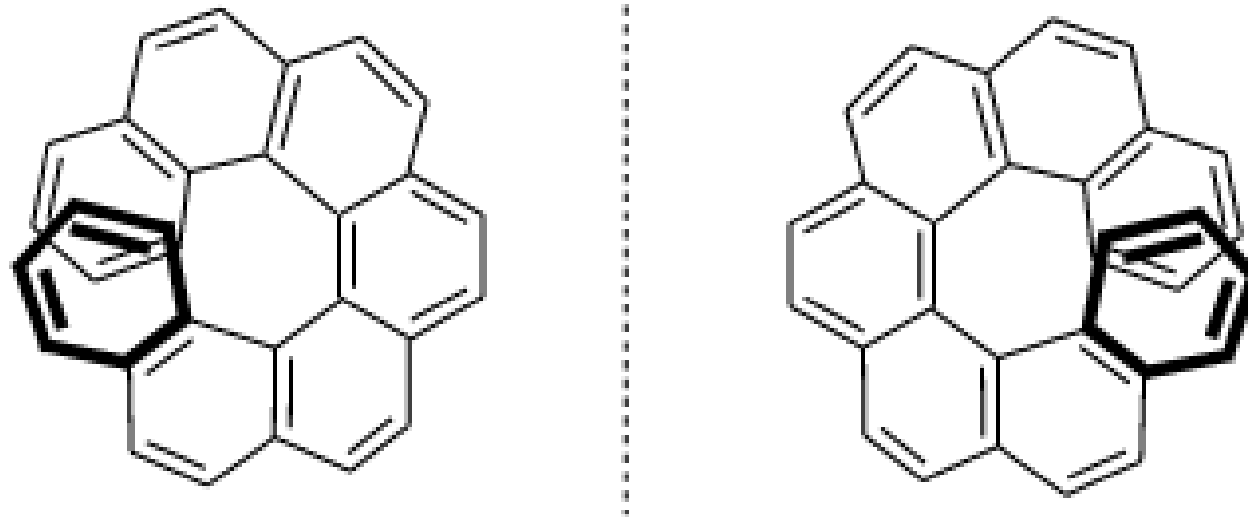
(-)-



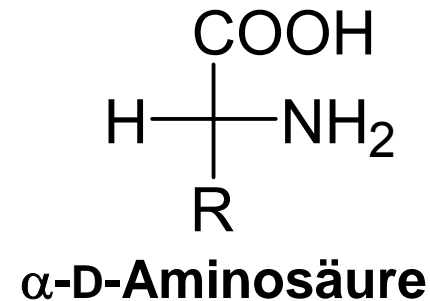
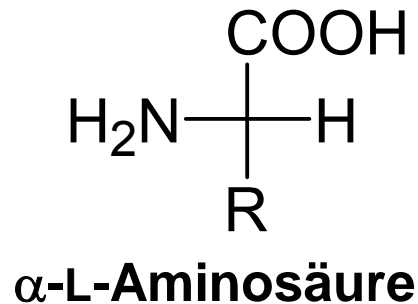
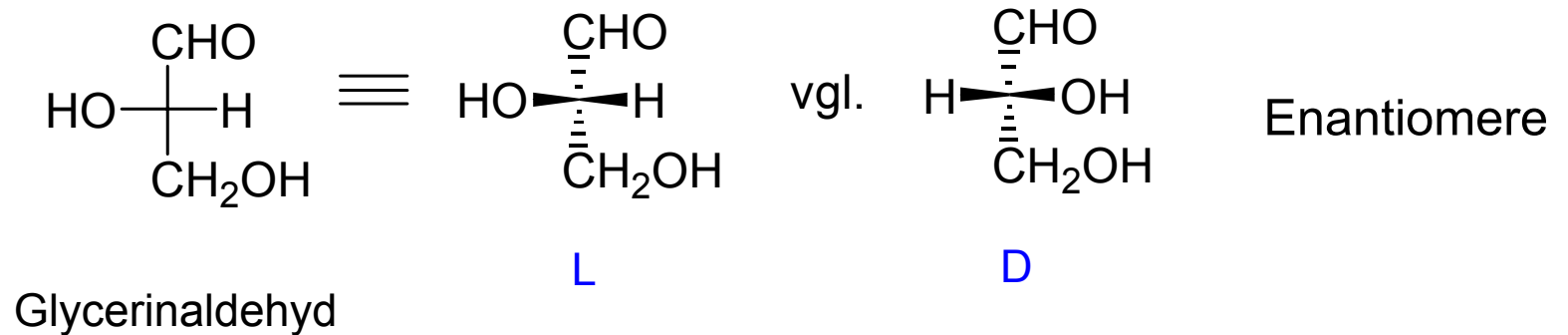
(+)-(E)-Cycloocten

- Helicale Chiralität

Molekül angeordnet als links-
oder rechtsgängige Schraube

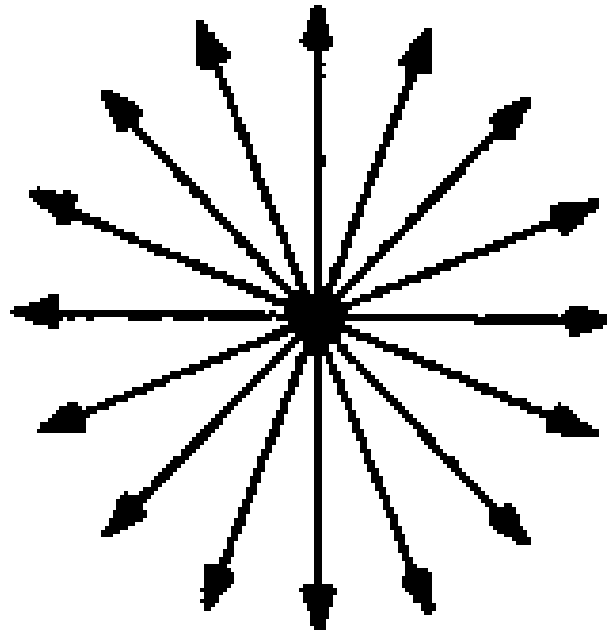


Aminosäuren sind Verbindungen mit zentraler Chiralität (asymmetrisches C-Atom)



Chirale Moleküle sind optisch aktiv (unterschiedliche Brechung und Absorption von links und rechts circular polarisiertem Licht)

Licht: elektro-magnetische Wellen, periodische Veränderungen elektrischer und magnetischer Felder in Raum und Zeit: $\mathbf{E}(x,t) = \mathbf{E}_0 \cdot \cos [2\pi (\nu \cdot t - x/\lambda) + \Phi]$

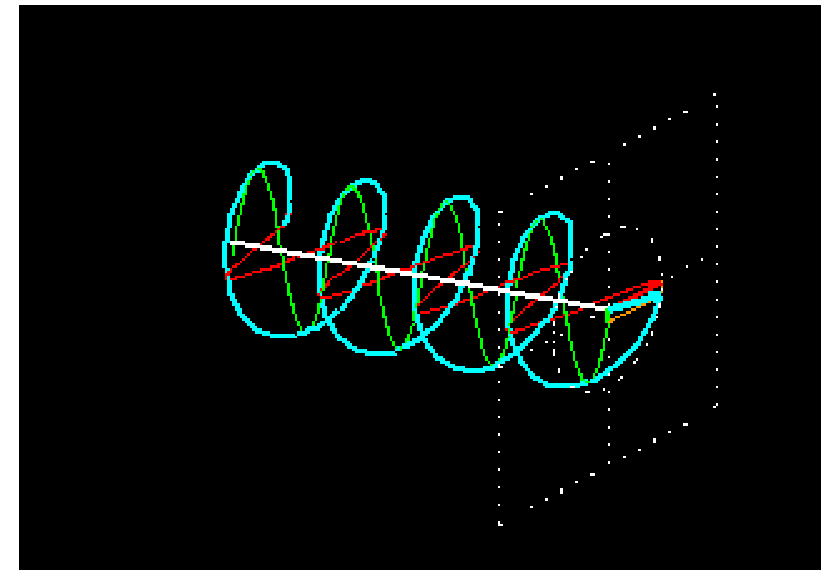
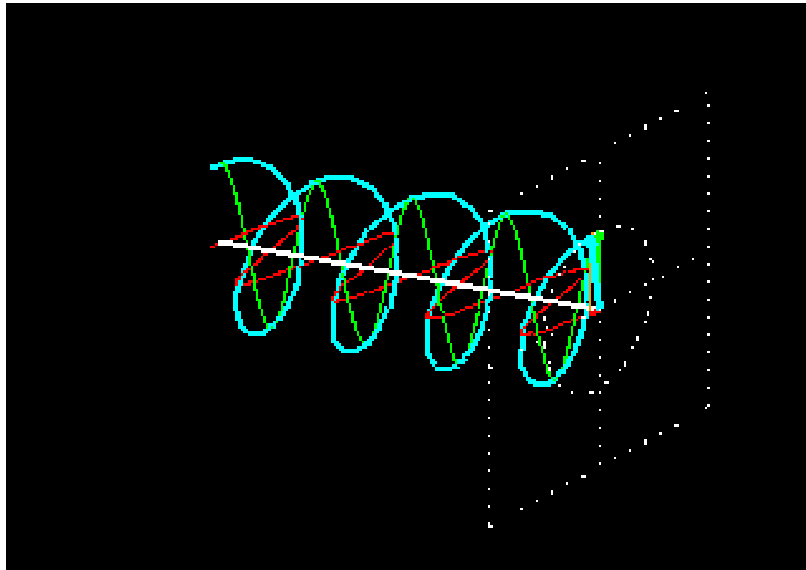


Isotropes Licht: Feldvektoren oszillieren in allen Ebenen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung



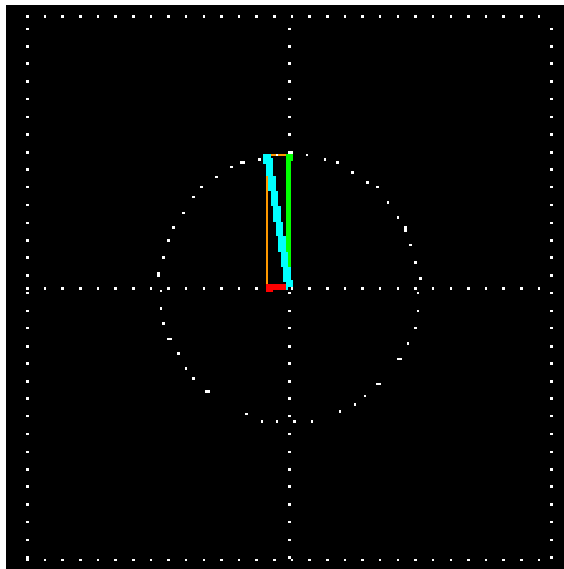
Anisotropes Licht (linear polarisiert): Feldvektor oszilliert nur in einer Ebene senkrecht zur Ausbreitungsrichtung

Circular polarisierte Lichtwellen



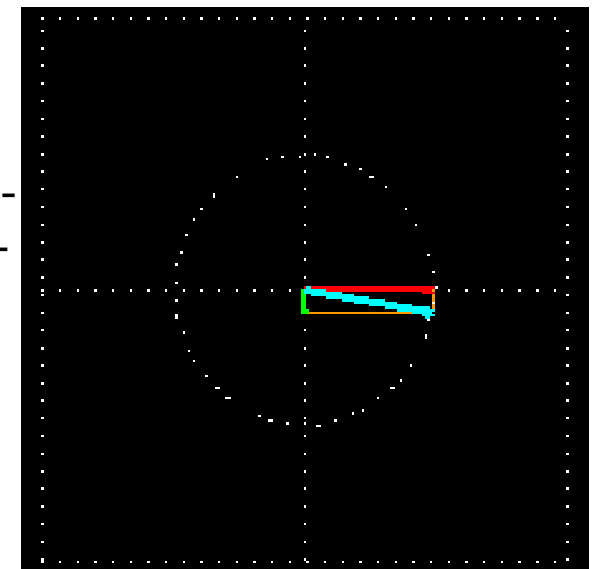
Links circular polarisiertes Licht:

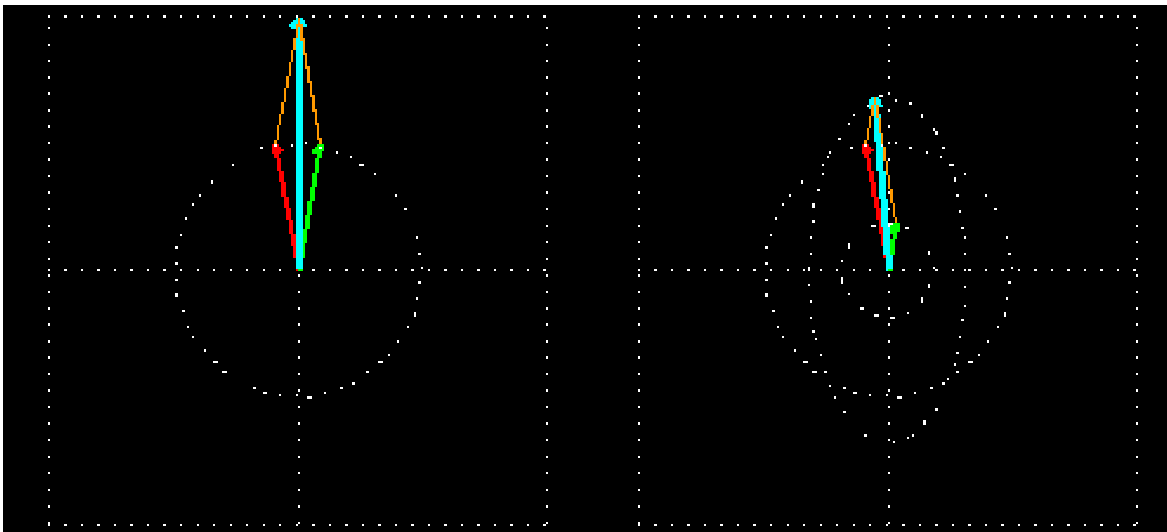
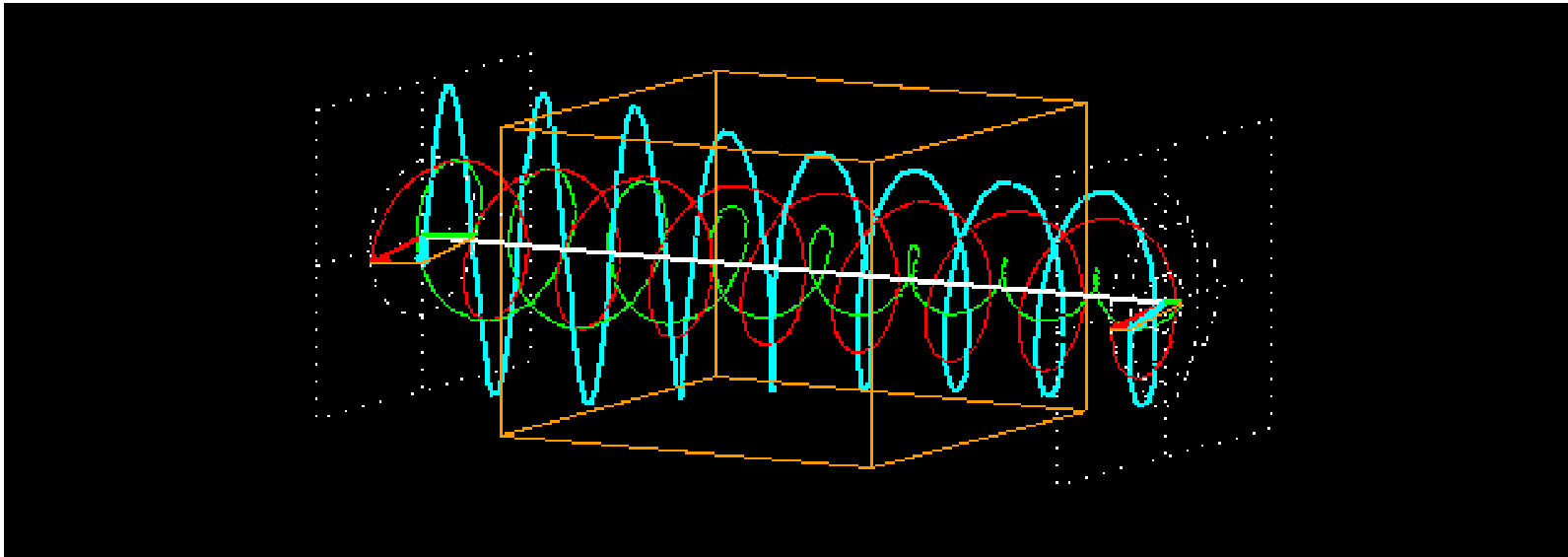
Überlagerung zweier senkrecht zueinander stehender linear polarisierter Lichtwellen mit Phasenverschiebung von $+90^\circ$



Rechts circular polarisiertes Licht:

Überlagerung zweier senkrecht zueinander stehender linear polarisierter Lichtwellen mit Phasenverschiebung von -90°

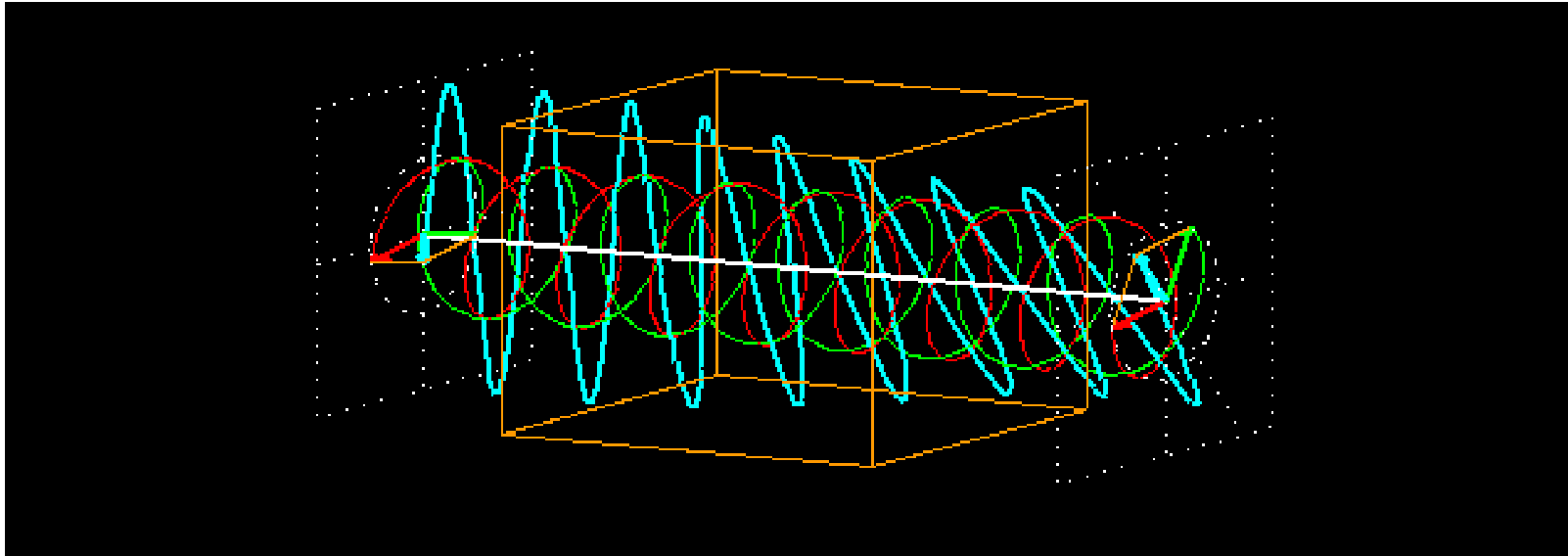




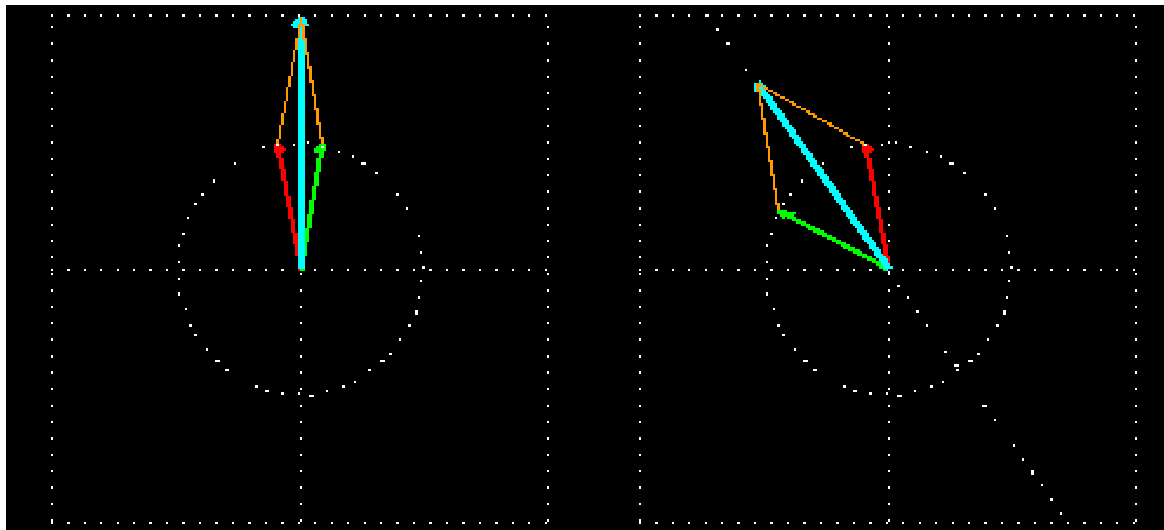
Circulardichroismus:

Unterschiedliche Absorption von rechts und links circular polarisiertem Licht beim Durchgang durch ein optisch aktives Medium (chirale Moleküle):

$$\epsilon_L \neq \epsilon_R$$



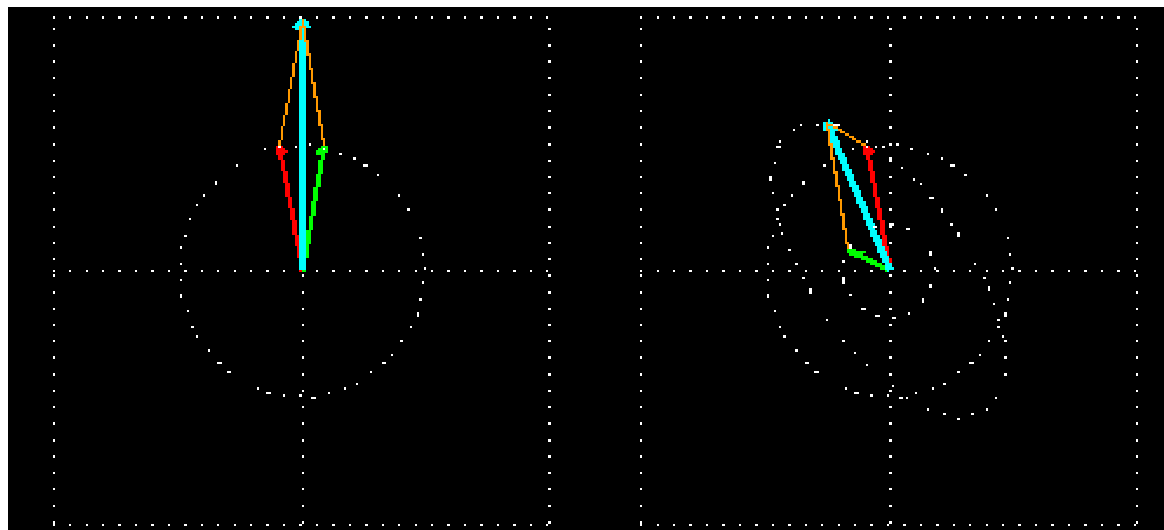
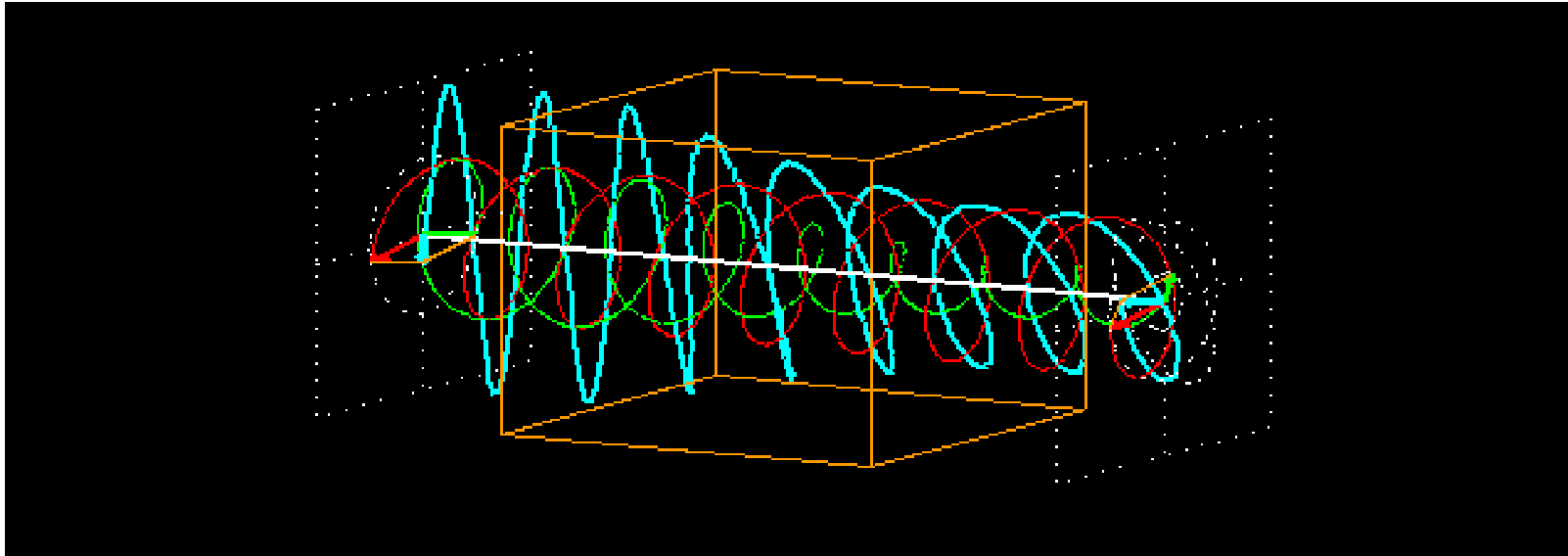
$$n = c_v / c$$



Circulare Doppelbrechung
(optische Aktivität):

Unterschiedlicher Brechungsindex n einer optisch aktiven Probe (chirale Moleküle) für links und rechts circular polarisiertes Licht:

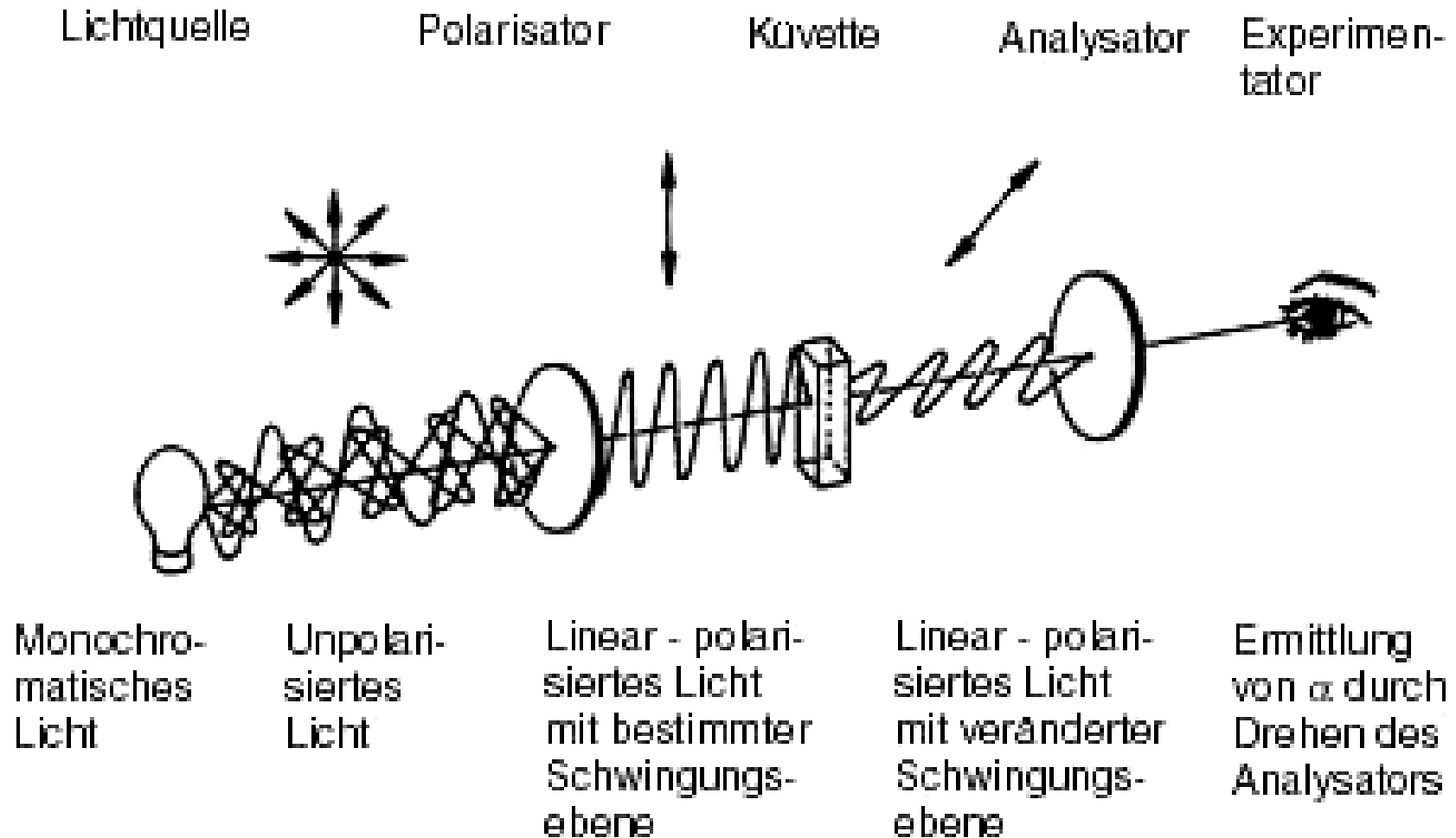
$$n_L \neq n_R$$



Optisch aktives Medium zeigt
normalerweise beide Phänomene:
Circulardichroismus und
Circulare Doppelbrechung

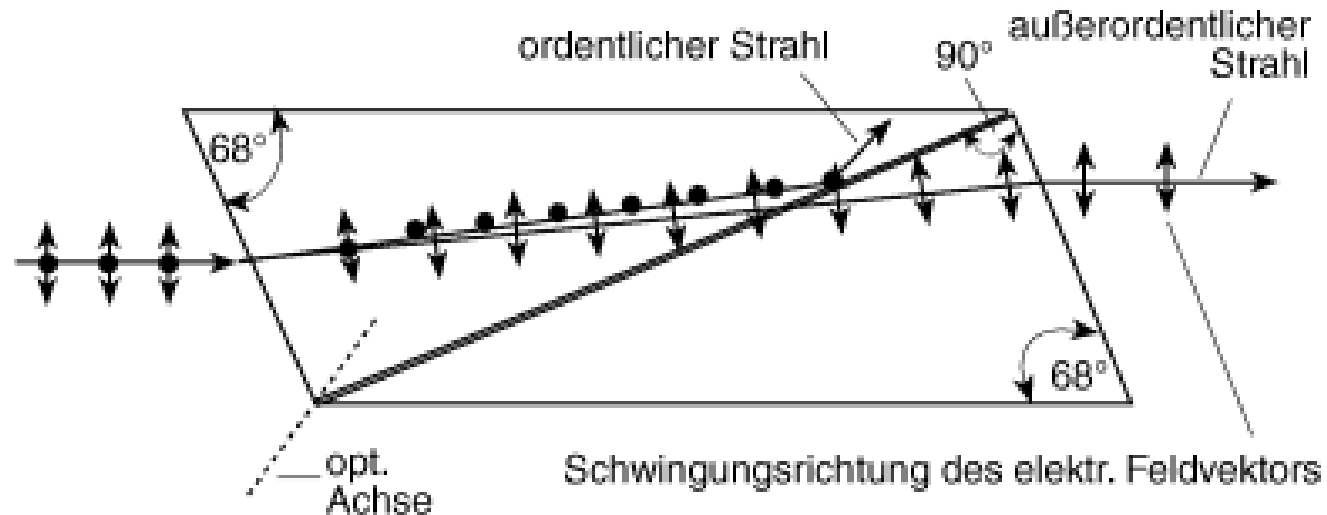
$$\begin{aligned}\epsilon_L &\neq \epsilon_R \\ n_L &\neq n_R\end{aligned}$$

Polarimetrie: Messung der Drehung der Polarisations Ebene linear polarisierter Strahlung
beim Durchgang durch optisch aktive Probe



Polarimetrie: Messung der Drehung der Polarisationssebene linear polarisierter Strahlung
beim Durchgang durch optisch aktive Probe

Nicolisches Prisma



Polarimetrie meist angewandt bei der quantitativen Bestimmung von Kohlenhydraten (Stärke, Saccharose, Invertzucker, Glucose etc.) in der Lebensmittelanalytik

Drehwert α :

$$\alpha = (n_L - n_R) \cdot \frac{1800 \cdot l}{\lambda_0} \quad [\text{deg}]$$

l = Weglänge der Küvette in Dezimeter (meist $l = 1 \text{ dm} = 10 \text{ cm}$)

λ_0 = Wellenlänge des Messlichtes im Vakuum in [cm]

Beispiel: Na-D-Linie $\lambda_0 = 589 \text{ nm}$
2-Butanol $\alpha = 11.2^\circ$ (Messwert) $\longrightarrow n_L - n_R = 11,2 \cdot \frac{589 \cdot 10^{-7}}{1800 \cdot 1} = 3,66 \cdot 10^{-7}$
 $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$
 $l = 1 \text{ dm}$

Spezifischer Drehwert $[\alpha]_\lambda^T$:

$$[\alpha]_\lambda^T = \frac{\alpha}{c \cdot l} \quad [\text{deg} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}]$$

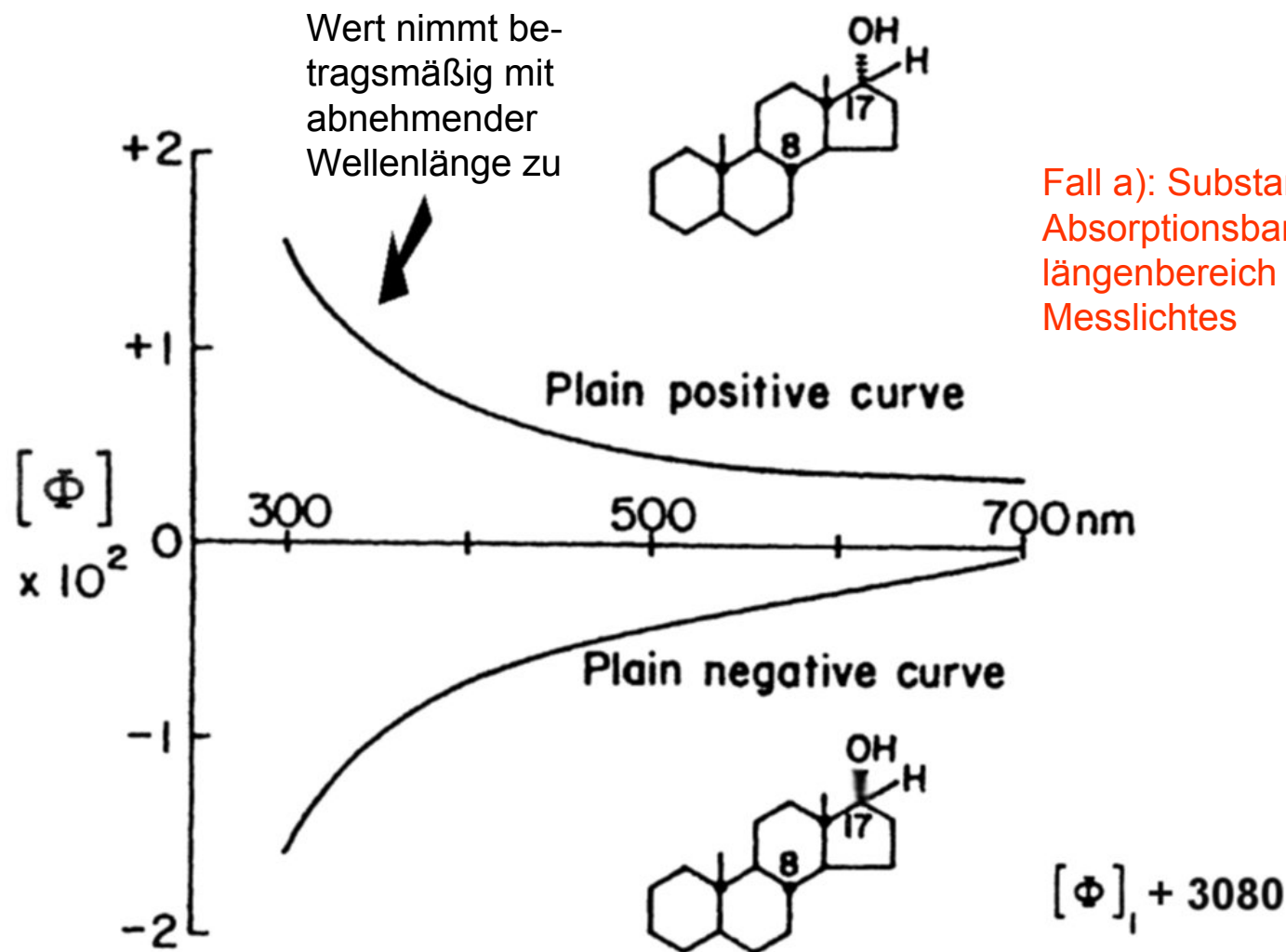
l = Weglänge der Küvette in [cm]
 c = Konzentration der optisch aktiven
Substanz in [$\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$]

Spezifische molare Drehung $[\Phi]_\lambda^T$:

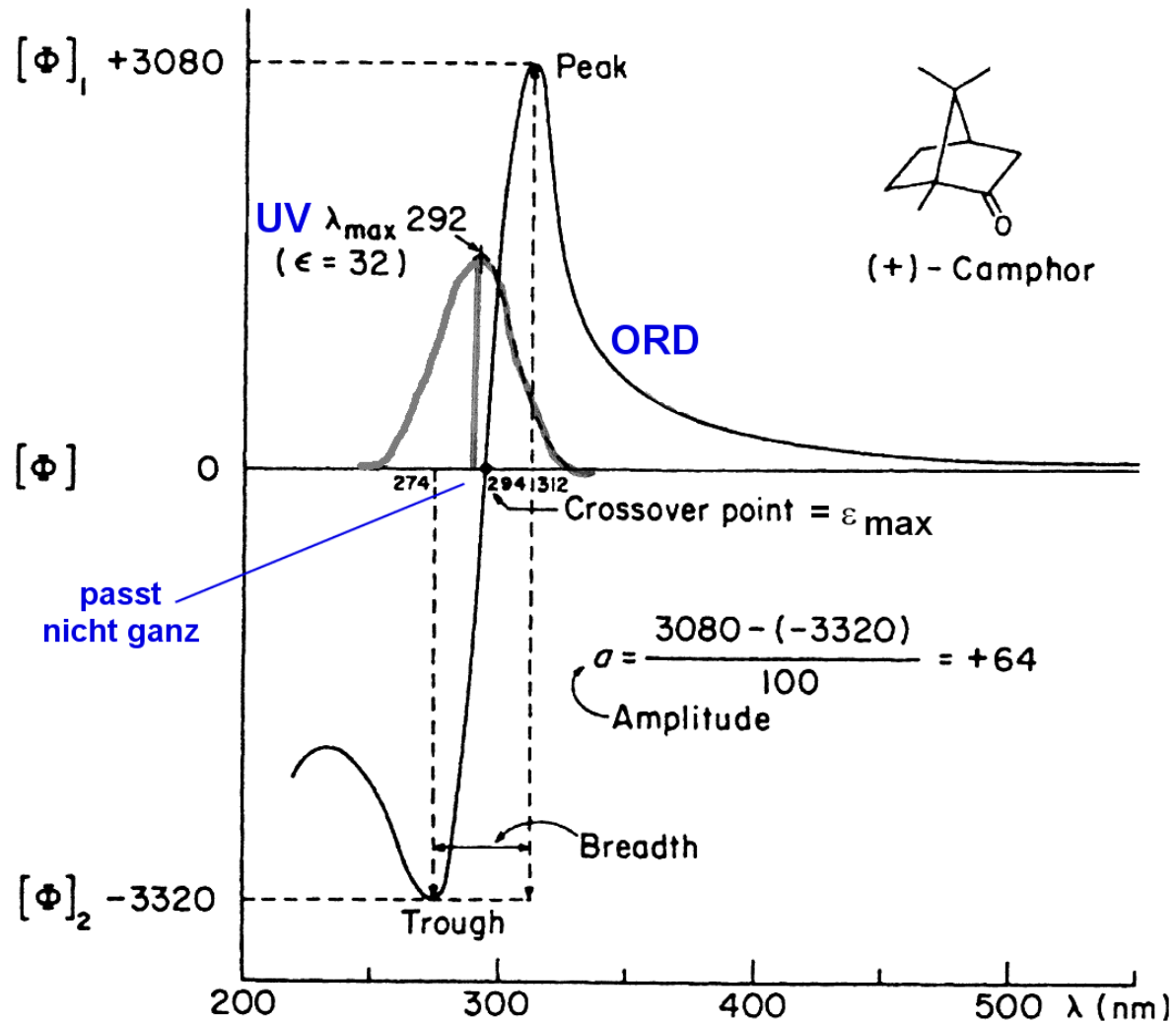
$$[\Phi]_\lambda^T = \frac{[\alpha]_\lambda^T \cdot M}{100} \quad [\text{deg} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}]$$

M = Molekulargewicht in [$\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$]

Optische Rotations Dispersion (ORD): Änderung der molaren Drehung
mit der Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes

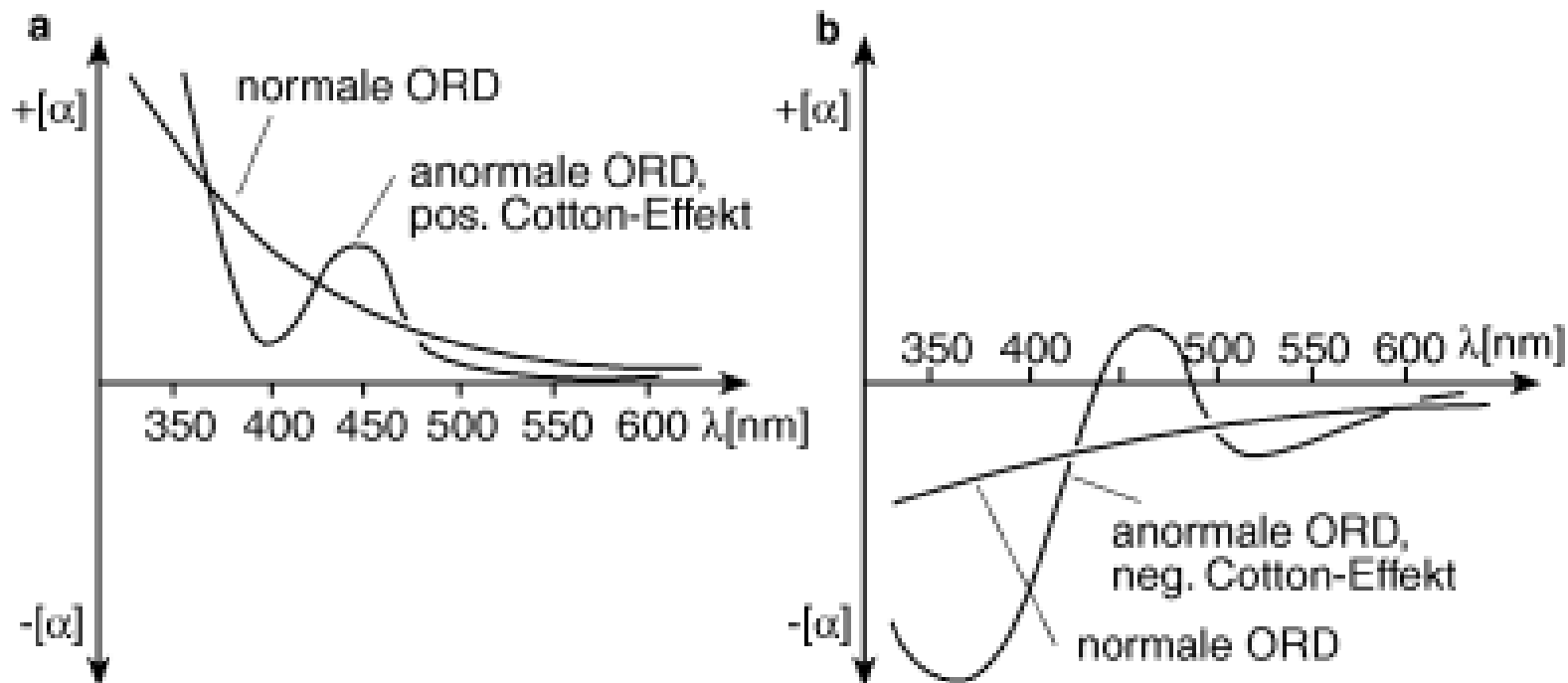


Fall a): Substanz hat keine
Absorptionsbande im Wellen-
längenbereich des eingestrahlten
Messlichtes



Fall b): Substanz hat Absorptionsbande im Wellenlängenbereich des eingestrahlichten Messlichtes

Cotton-Effekt: Anomalie in der Rotationsdispersionskurve



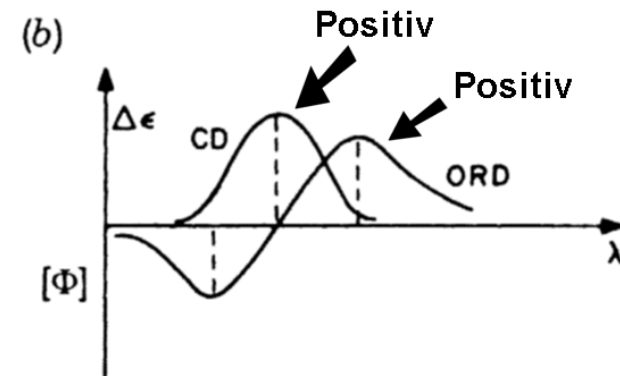
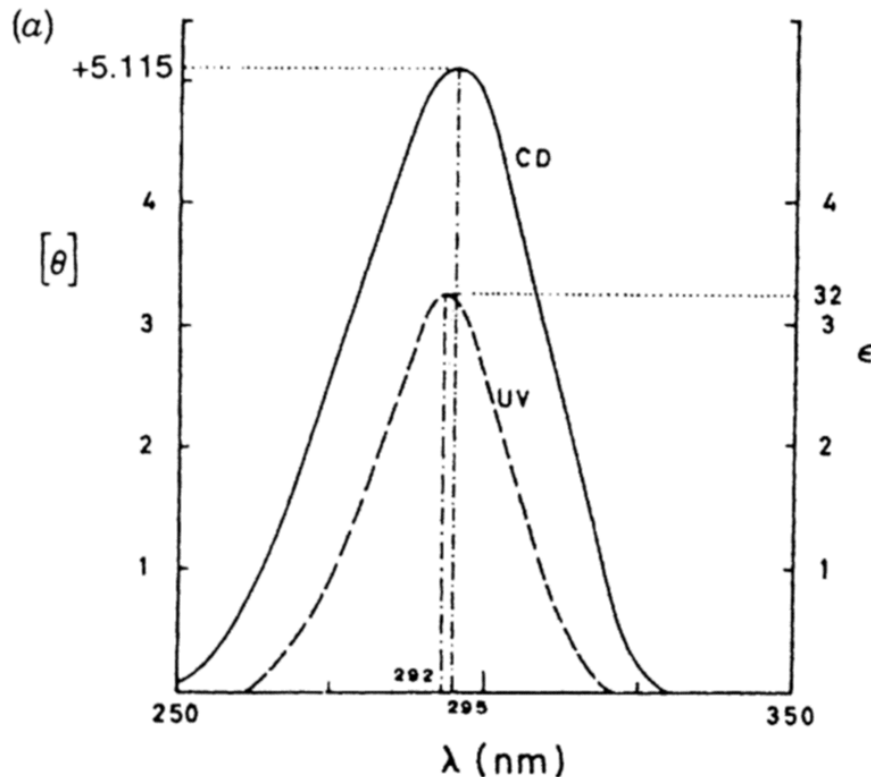
Positiver Cotton-Effekt: mit abnehmender Wellenlänge zeigt Wert von $[\Phi]$ bzw. $[\alpha]$ erst Peak dann Tal

Negativer Cotton-Effekt: mit abnehmender Wellenlänge zeigt Wert von $[\Phi]$ bzw. $[\alpha]$ erst Tal dann Peak

Analog bei CD-Spektrum:

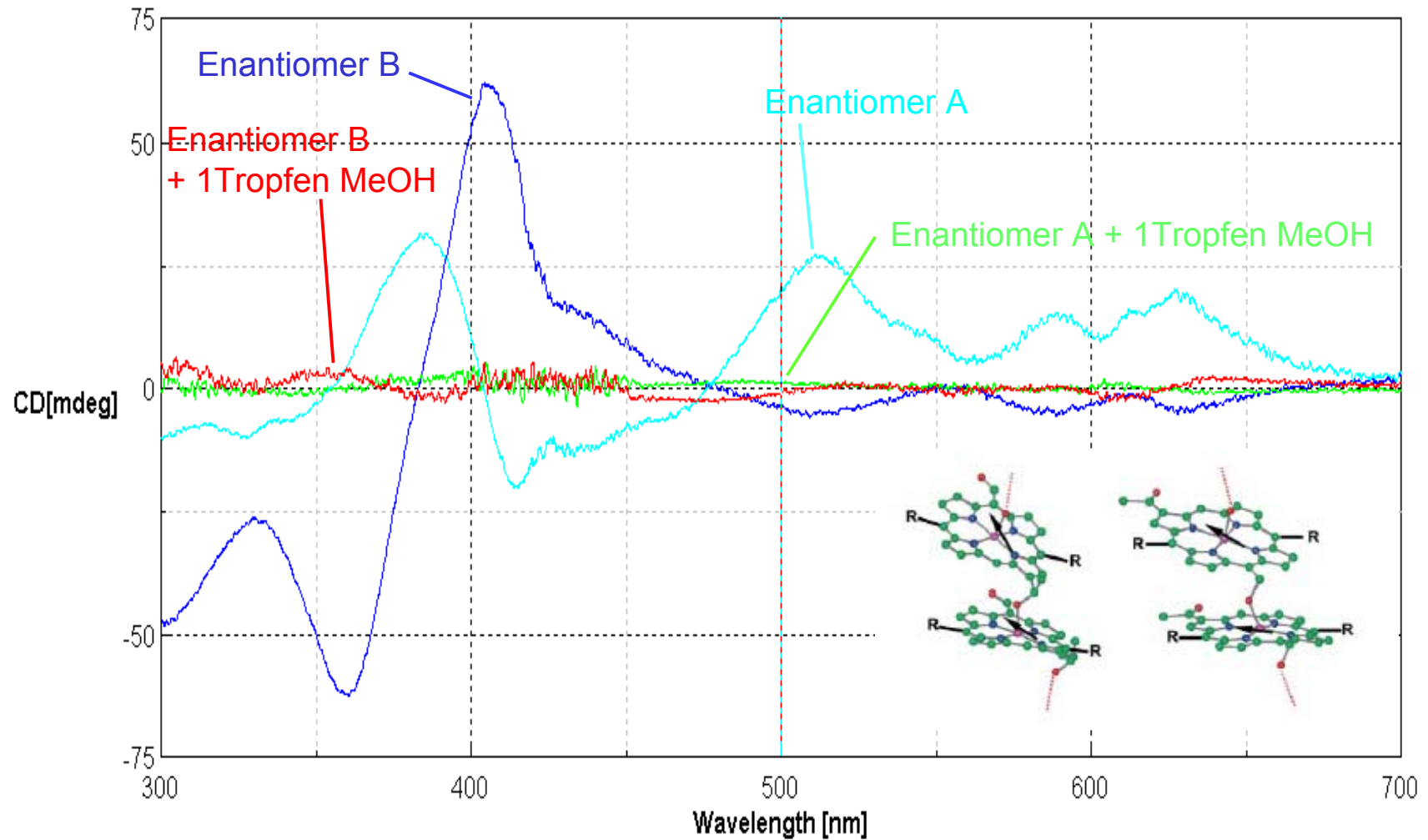
Positiver Cotton-Effekt: $\Delta\varepsilon (\varepsilon_L - \varepsilon_R)$ positiv

Negativer Cotton-Effekt: $\Delta\varepsilon (\varepsilon_L - \varepsilon_R)$ negativ

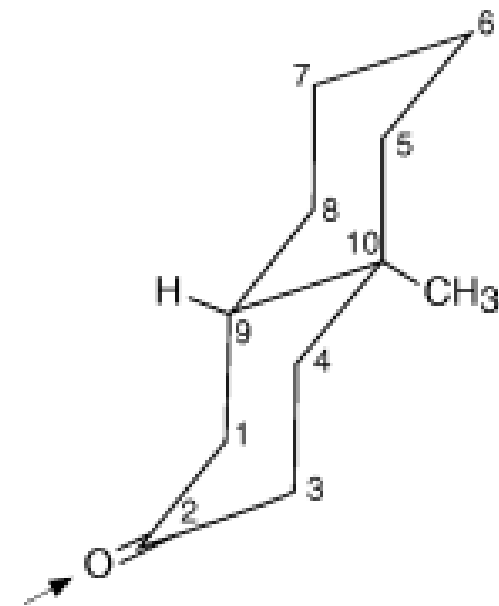
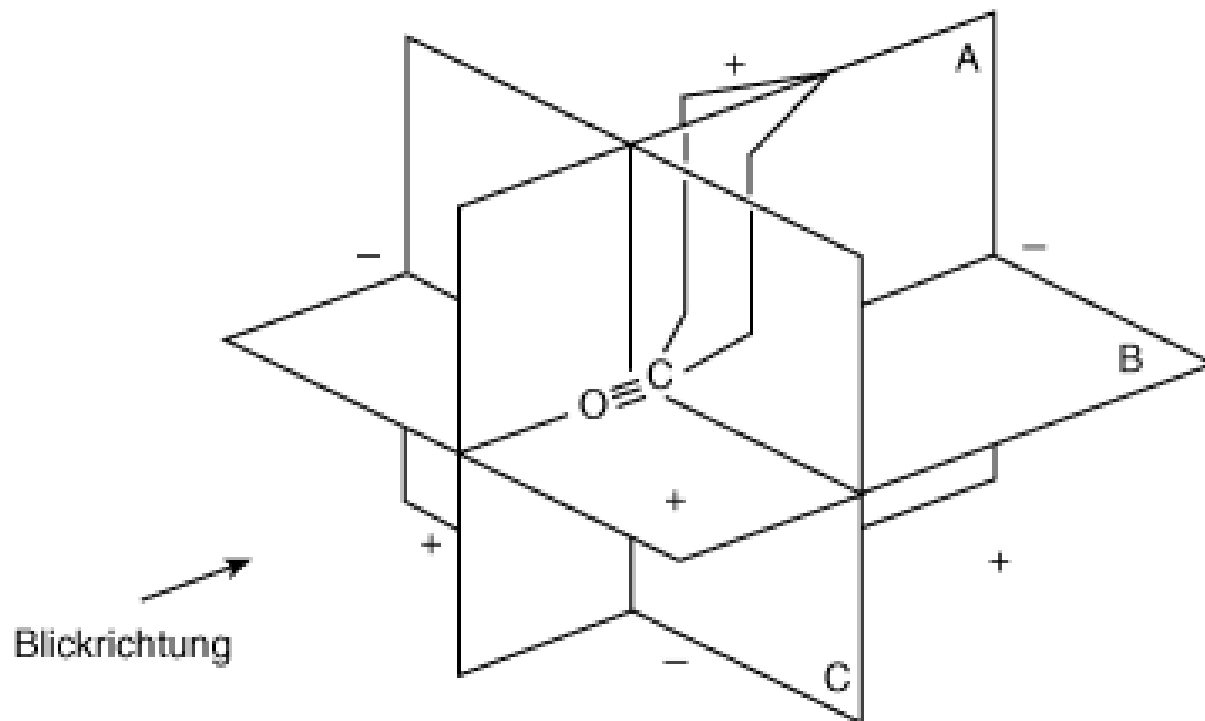


ORD und CD reiner optisch aktiver Substanzen + Interpretation Cotton-Effekte:
Aussagen über Molekülgeometrie, Festlegung relativer, gegebenenfalls auch
absoluter Konfigurationen einzelner chiraler Zentren.

Vis- CD-Spektren selbstordnender Porphyrine (Balaban –INT)



Oktanten-Regel (nur für CO-Chromophor):
halbempirische Regel stellt Zusammenhang zwischen Molekülgeometrie und dem Vorzeichen
des Cotton-Effektes her (Aussage über Konfiguration möglich)



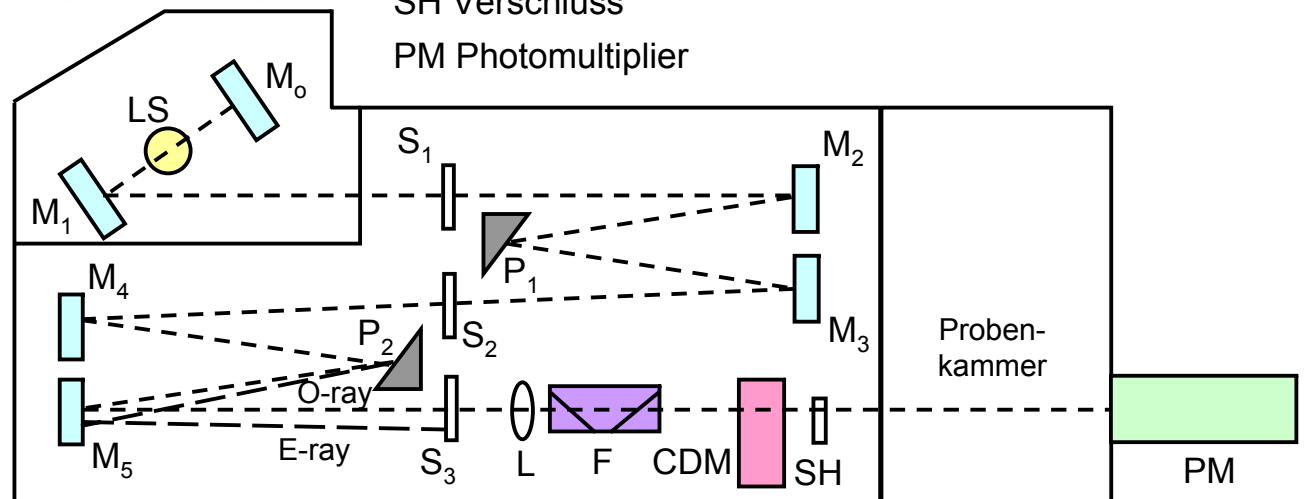
(+)-*trans*-10-Methyl-Decalon-(2)
zeigt positiven Cotton-Effekt

Moffitt et al., J. Am. Chem. Soc. **83**, 4013 (1961)

Instrument: J-810 CD-Spektropolarimeter (JASCO)

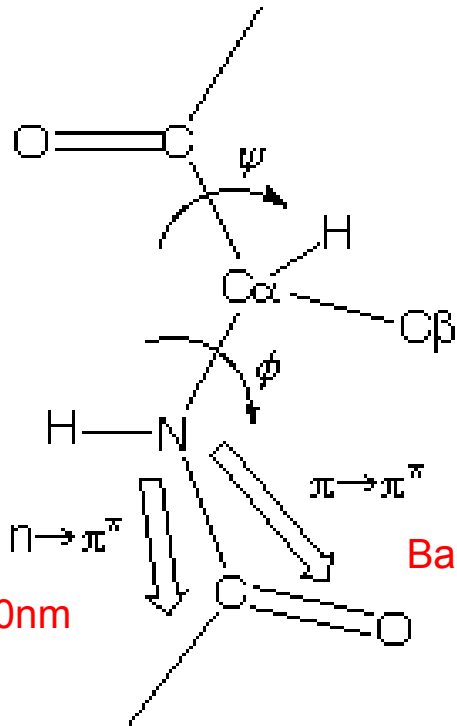


- LS Lichtquelle (Xenonlampe, 150W)
- M₁ elliptischer Spiegel
- M₀ sphärischer Spiegel
- S₁, S₂, S₃ Eingangs-, Zwischen- und Ausgangsspalt
- M₂-M₅ kollimierende sphärische Spiegel
- P₁ Prisma (horiz. opt. Achse) P₂ Prisma (vertik. opt. Achse)
- L Quarzglaslinse
- F Filter (Quarzglasplatten filtern lineare Polarisierung)
- CDM CD-Modulator (piezoelastisches Element + Quarzkristall wirken als achromatische $\lambda/4$ -Platte)
- SH Verschluss
- PM Photomultiplier



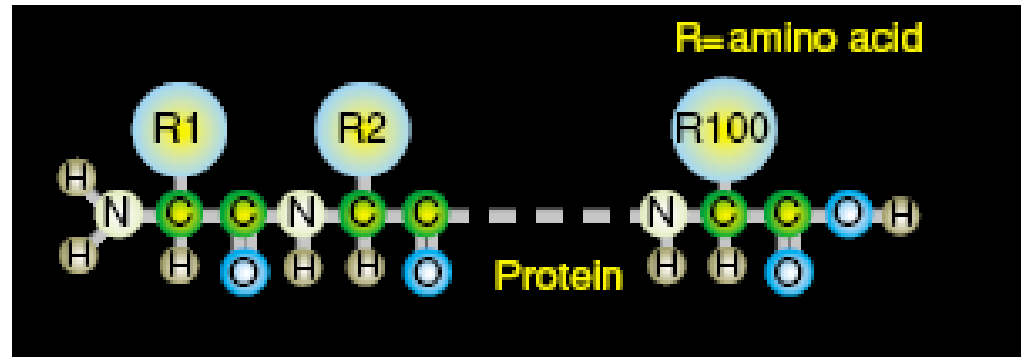
Circulardichroismus bei Peptiden und Proteinen:

- Probe ist optisch aktiv
- Probe hat Chromophore in der Nähe der Chiralitätszentren



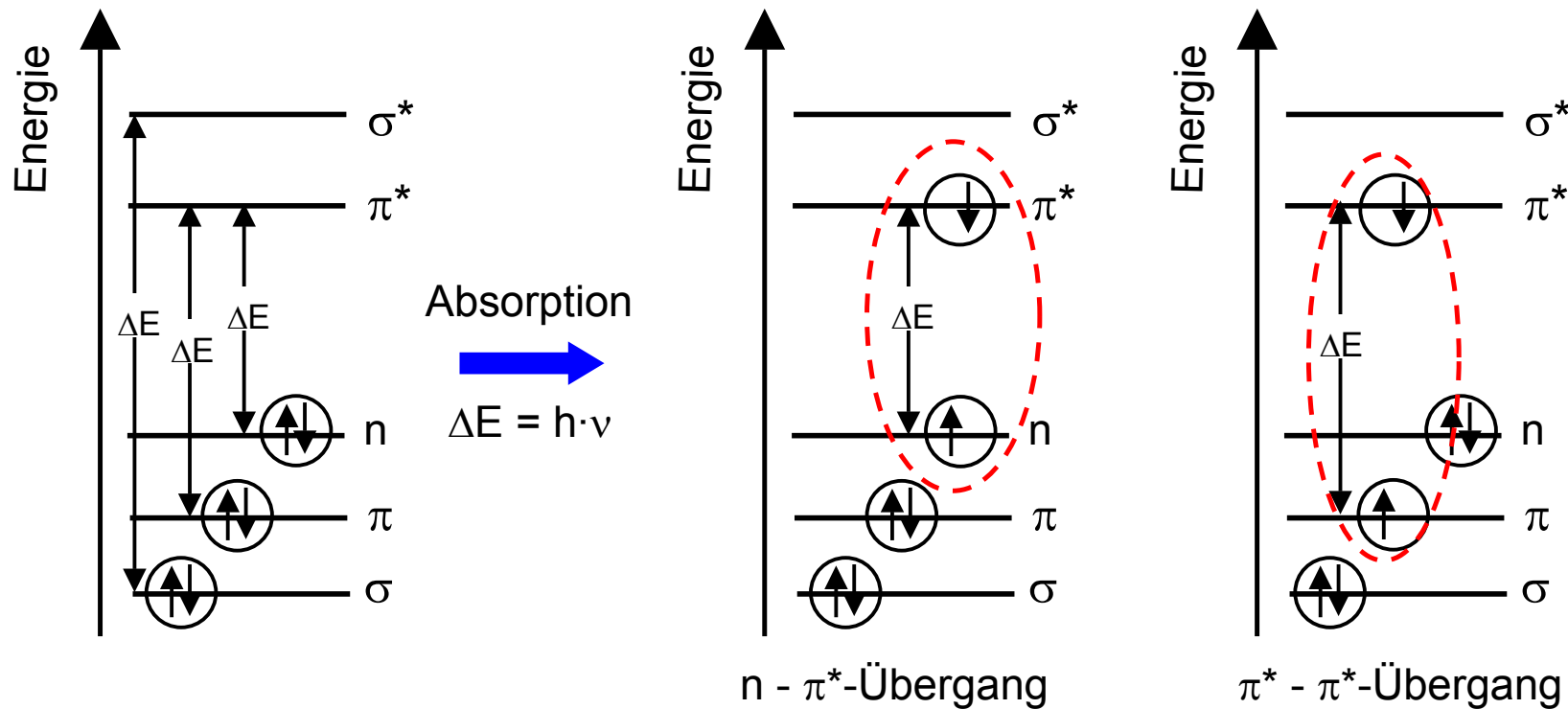
Bande bei ~220nm

Bande bei ~190 nm



Chromophor von Peptiden und Proteinen im fernen UV:
Peptidbindung

Elektronische Übergänge zwischen Molekülorbitalen



Nomenklatur: Einheiten bei CD-Messungen

Elliptizität θ :

$$\theta = \arctan (b/a)$$

wobei:

b = kleine Halbachse

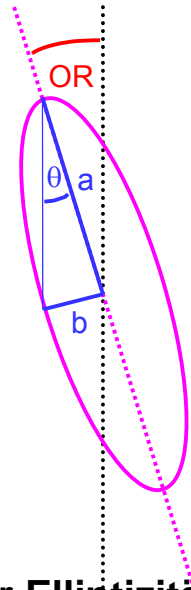
a = große Halbachse

$$\Delta A = \theta / 32980$$

wobei:

ΔA = Extinktion

θ = Elliptizität in [mdeg]



Für Biomakomoleküle wie z.B. Proteine wird die **mittlere molare Elliptizität $[\theta]_{MRW}$** pro AS-Rest angegeben:

$$[\theta]_{MRW} = \theta / 10 \cdot C_r \cdot l \quad \text{in [deg}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{decimol}^{-1}\text{]}$$

wobei:

C_r = molare Konzentration pro mittlerem AS-Rest

$$C_r = (n \cdot 1000 \cdot c_g) / M_r \quad [\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}]$$

n = Anzahl der Aminosäurereste im Protein

c_g = Proteinkonzentration [g·ml⁻¹]

M_r = Molekulargewicht des Proteins [g·mol⁻¹]

Literaturdaten werden oft in **molarer Elliptizität $[\theta]$** angegeben:

$$[\theta] = \theta / 10 \cdot C \cdot l \quad \text{in [deg}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{decimol}^{-1}\text{]}$$

wobei:

θ = Elliptizität in [mdeg]

C = molare Konzentration [mol·l⁻¹]

l = opt. Schichtdicke [cm]

Eine weiter oft benutzte Einheit ist

der **molare circulare Dichroismus $\Delta\varepsilon$ (delta epsilon)**:

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R = \Delta A / C \cdot l \quad \text{in [l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}\text{]}$$

der mit $[\theta]$ wie folgt zusammenhängt:

$$[\theta] = 3298 \cdot \Delta\varepsilon$$

Bestimmung der Proteinkonzentration zur Berechnung von $[\Theta]_{MRW}$

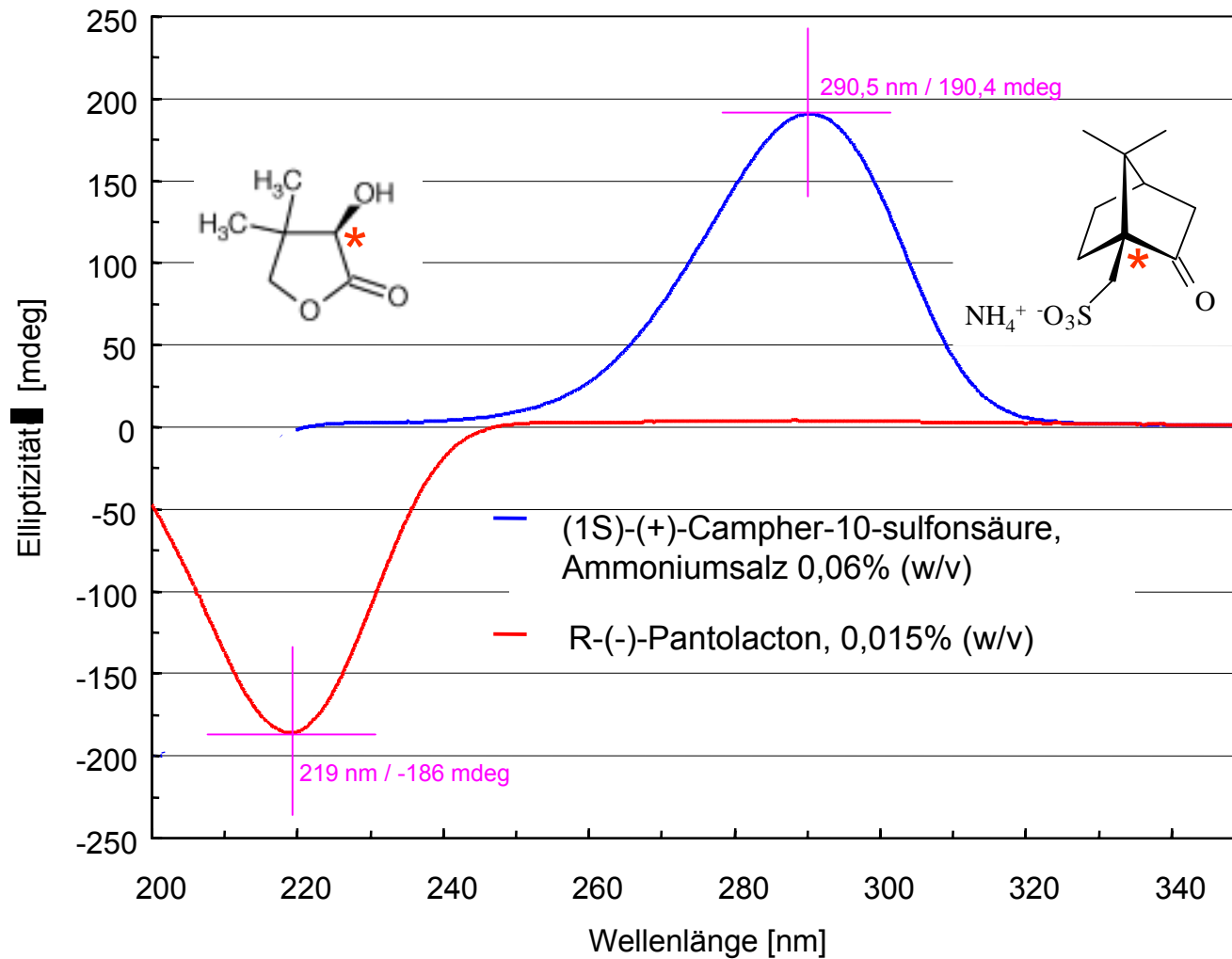
Gute Methoden:

1. Quantitative Aminosäureanalyse
2. UV-Spektroskopie aromatischer Aminosäurereste (Trp, Tyr, Cys) unter denaturierenden Bedingungen (Gnd-HCl)
3. Bestimmung des Gesamt-Stickstoffs
4. NMR

Nicht akzeptabel:

1. Bradford-Methode (kolorimetrisch)
2. Lowry-Methode (kolorimetrisch)
3. Extinktion eines nativen Proteins bei 280 und / oder 260 nm

Standardsubstanzen für die Kalibrierung der CD-Skala



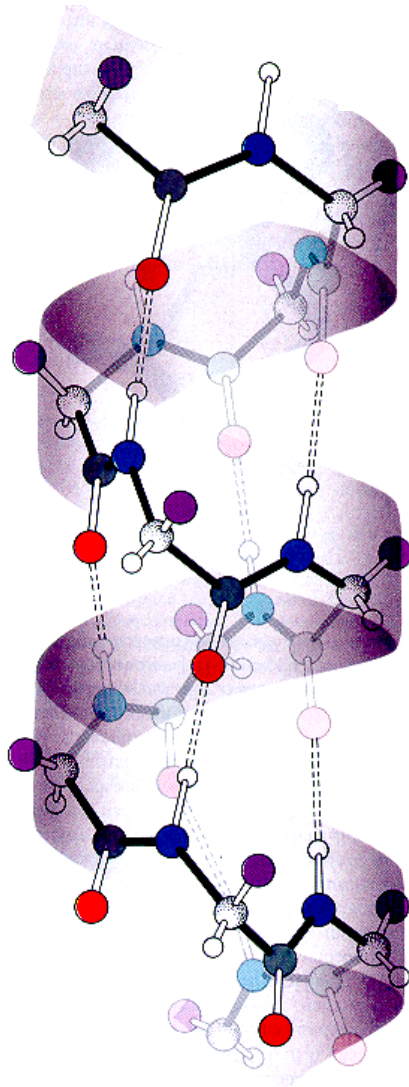
Anwendungen der CD-Spektroskopie in der Strukturbiologie

- Sekundärstrukturanalyse von Proteinen und Nukleinsäuren (globale Information)
- Erfassung von Effekten der Substratbindung auf die Proteinsekundärstruktur
- Thermodynamik und Kinetik der Proteinfaltung / -entfaltung
- Untersuchungen von Umgebungsbedingungen auf Protein-Sekundärstruktur
- Untersuchung Liganden-induzierter Konformationsänderungen
- Studium von Protein-Protein und Protein-Nukleinsäure -Wechselwirkungen

Warum sollte man CD-Spektroskopie zur Strukturaufklärung nutzen?

- Einfache und schnelle Experimente
- Keine aufwändige Probenpräparation
- Messungen von Proteinlösungen
- Relativ kleine Probenkonzentrationen / -mengen
- beliebige Größe des Biomakromoleküls
- meist zerstörungsfreie Methode

CD-Spektren für verschiedene Protein-Sekundärstrukturen im fernen UV-Bereich

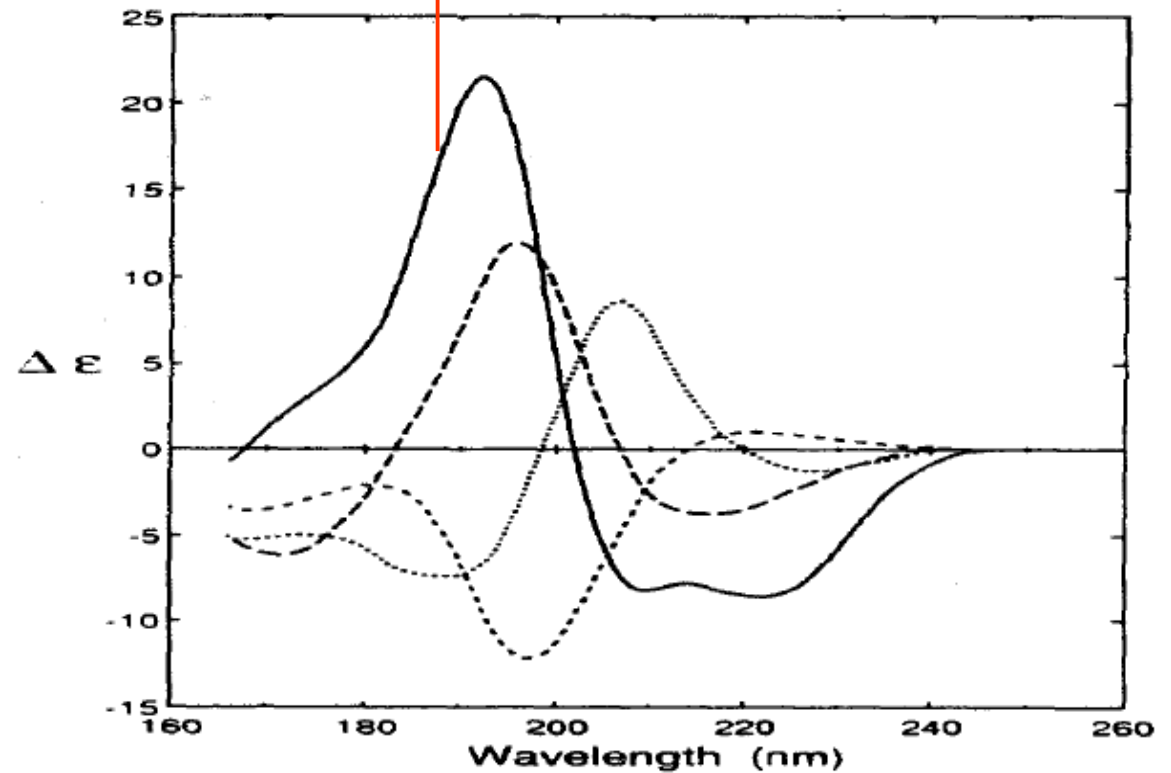


α -Helix

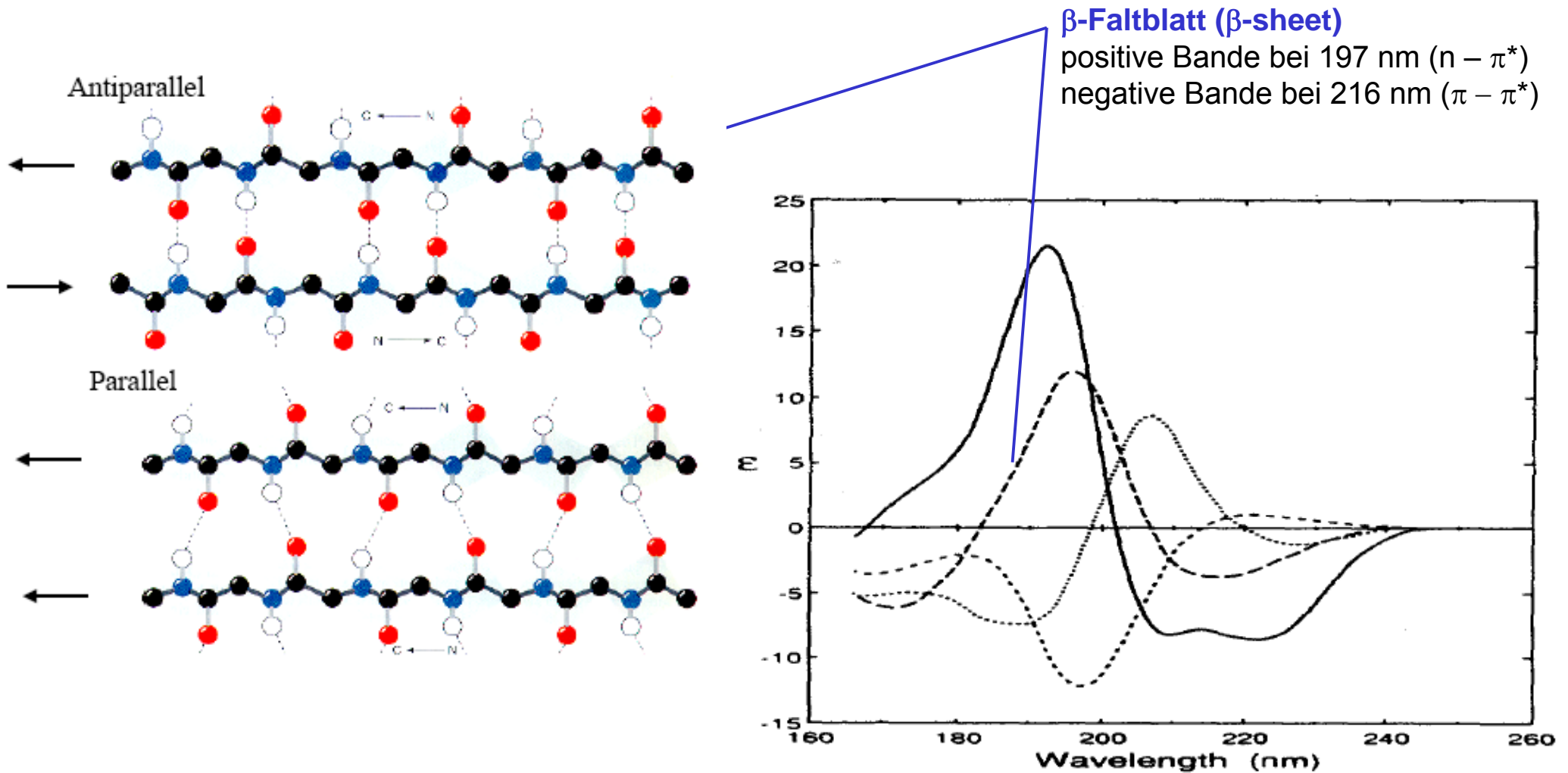
Exziton-Kopplung:

positive Bande bei 192 nm ($\pi - \pi^*$)
negative Bande bei 209 nm ($\pi - \pi^*$)

negative Bande bei 222 nm ($n - \pi^*$)

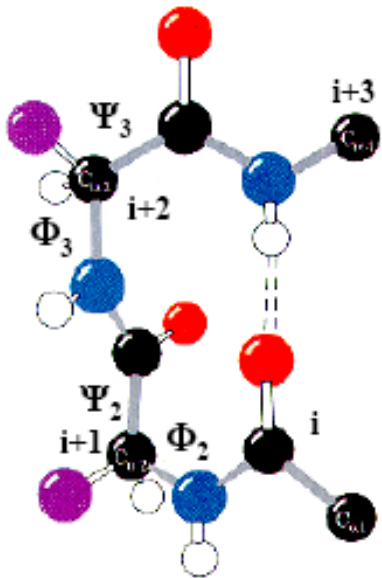


CD-Spektren für verschiedene Protein-Sekundärstrukturen im fernen UV-Bereich

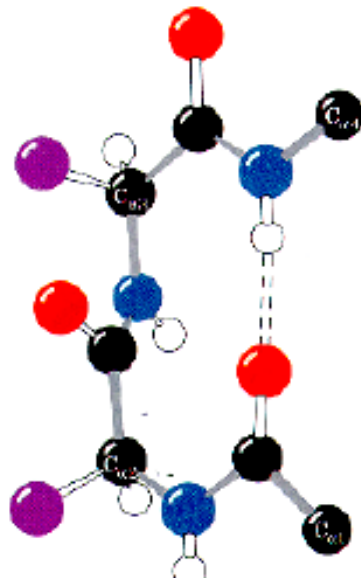


CD-Spektren für verschiedene Protein-Sekundärstrukturen im fernen UV-Bereich

β -Schleife (Typ I)



β -Schleife (Typ II)

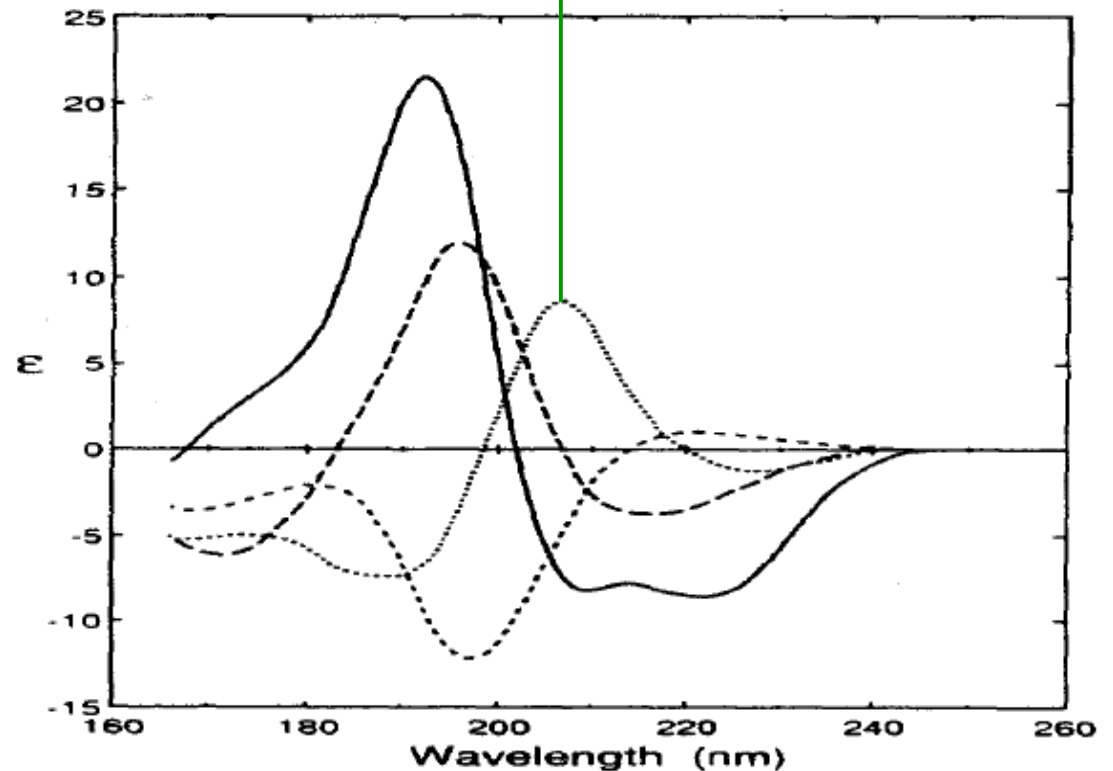


$\Phi_2, \Psi_2, \Phi_3, \Psi_3$ bestimmen die Konformation des turns

oft als Verbindung zweier antiparalleler β -Stränge
(Haarnadelschleife)

β -Schleife (β -turn)

positive Bande bei 207 nm
negative Bande bei 189 nm

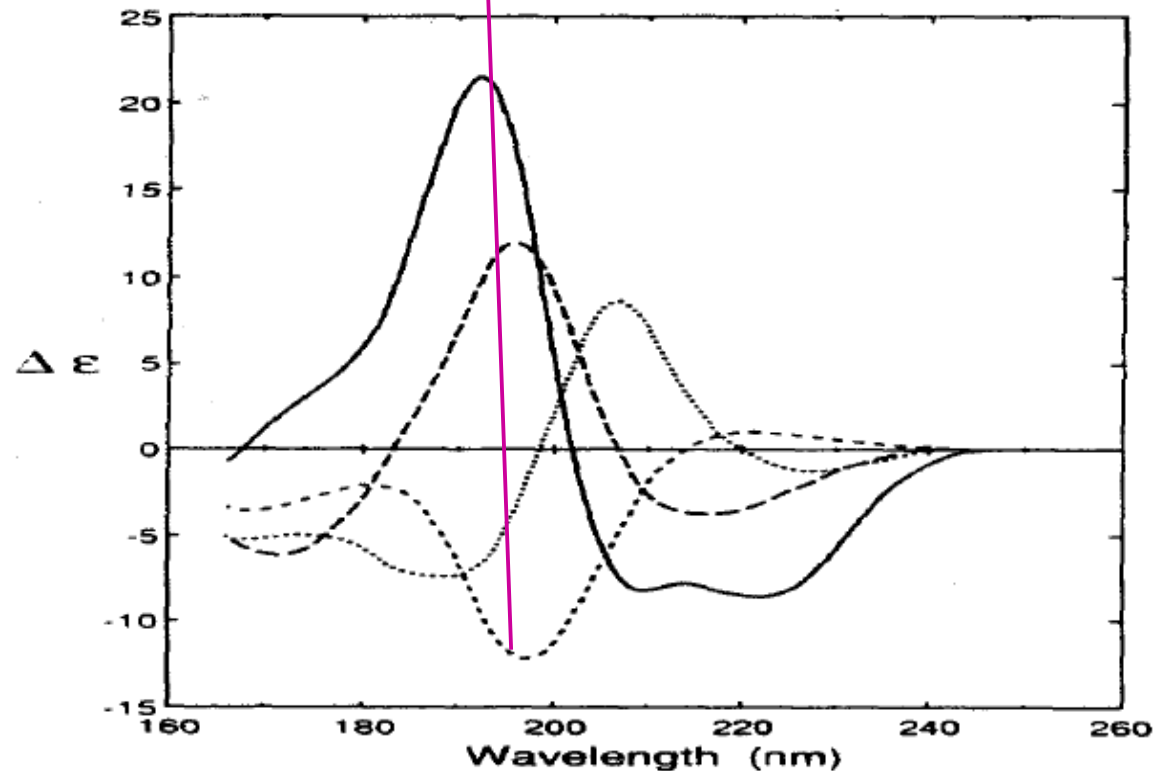


CD-Spektren für verschiedene Protein-Sekundärstrukturen im fernen UV-Bereich

Protein oder Teilstück eines Proteins
ohne erkennbare Sekundärstruktur
(irreguläre Struktur)

Statistisches Knäuel
(random coil)

positive Bande bei 212 nm ($\pi - \pi^*$)
negative Bande bei 198 nm ($n - \pi^*$)



Quantitative Analyse der Sekundärstruktur von Peptiden und Proteinen in Lösung mittels CD-Spektroskopie

Vorgehensweise:

- Annahme: CD-Spektrum eines Proteins ist eine Linearkombination aus den Basisspektren verschiedener Sekundärstrukturelemente (α -Helix, β -Faltblatt...)
- Basisspektren der verschiedenen Konformationen werden aus Referenzdatensatz bekannter CD-Proteinspektren „extrahiert“
- Gehalt an Sekundärstrukturelementen in den Referenzproteinen ist aus Strukturanalysen mit hochauflösenden Methoden (Röntgenkristallographie, NMR) genau bekannt und ist bei Festproben und gelösten Proben äquivalent
- Gehalt an Sekundärstrukturelementen eines unbekanntes Proteins somit analysierbar, wenn strukturell nicht zu weit von den Referenzstrukturen entfernt

$$\Theta_{\lambda} = \sum f_i S_i + \text{Rauschen}$$

Θ_{λ} = Elliptizität des Proteins bei Wellenlänge λ

f_i = Anteil der jeweiligen Sekundärstrukturkonformation i

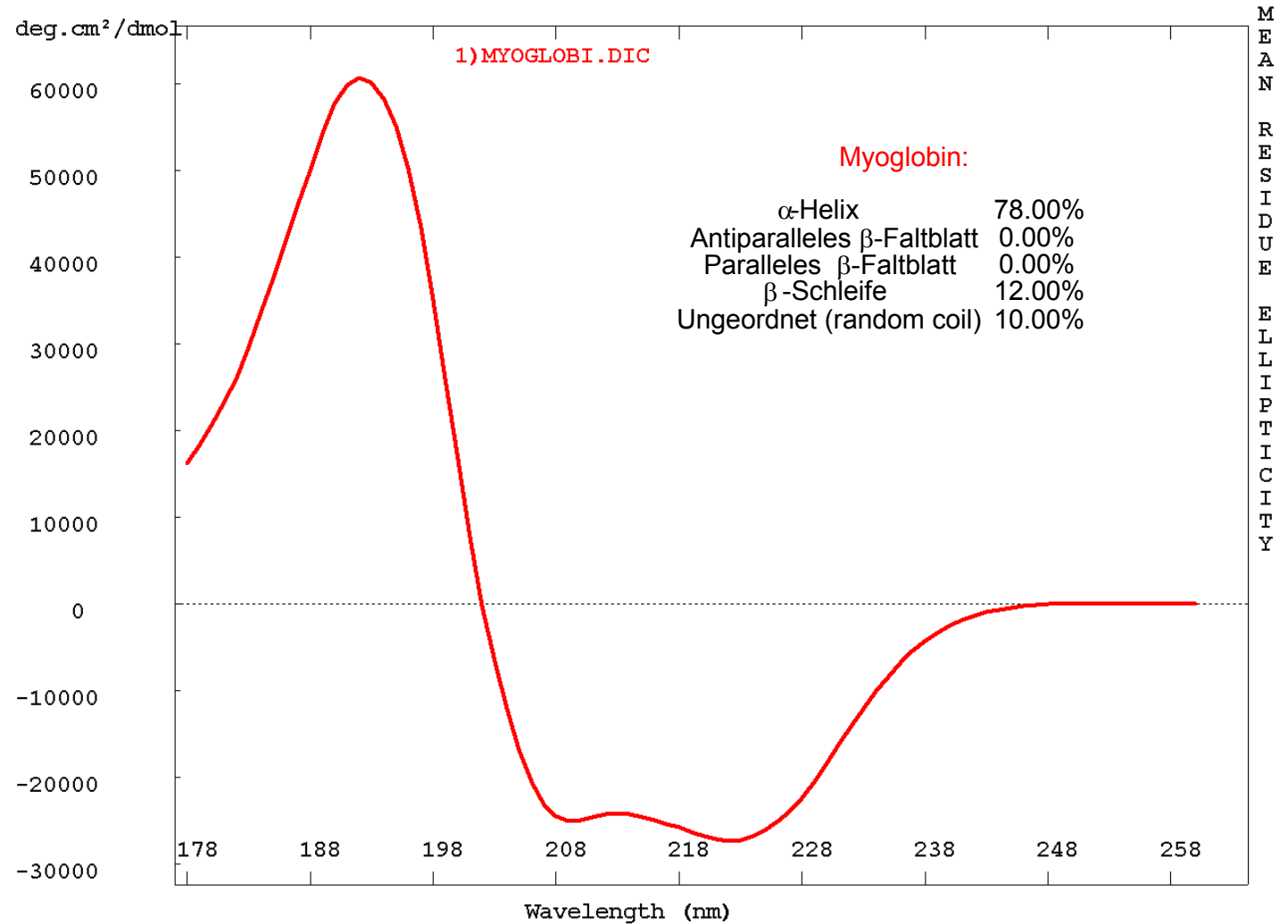
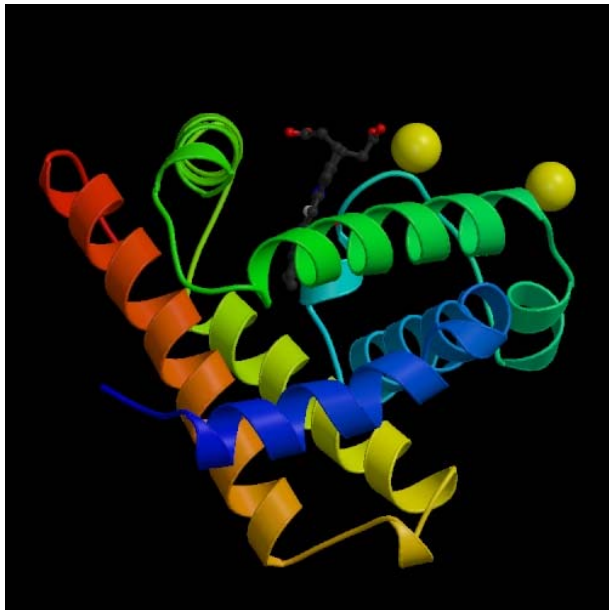
S_i = Elliptizität des Sekundärstrukturelements i bei
der Wellenlänge λ

Quantitative Analyse der Sekundärstruktur von Peptiden und Proteinen in Lösung mittels CD-Spektroskopie

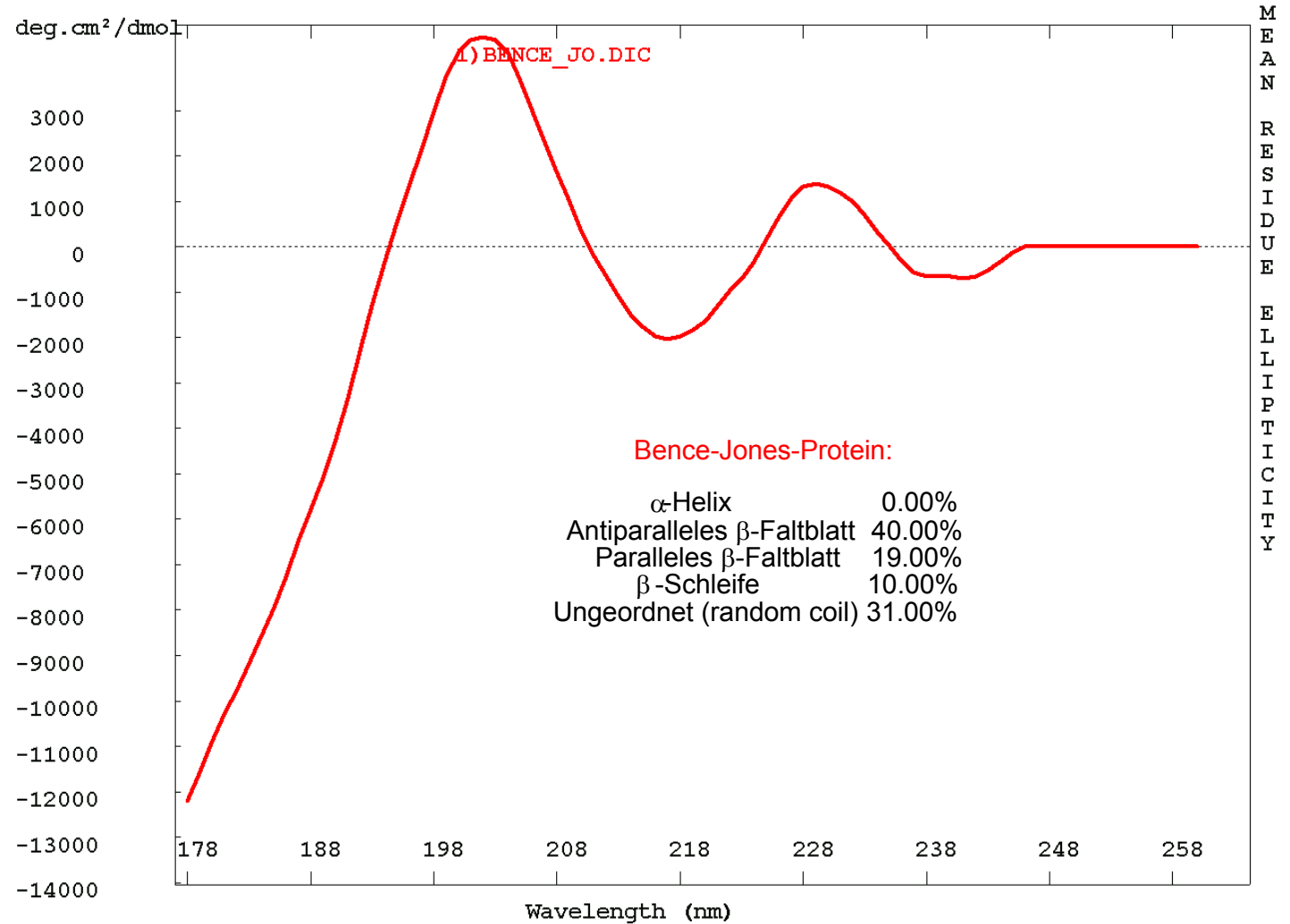
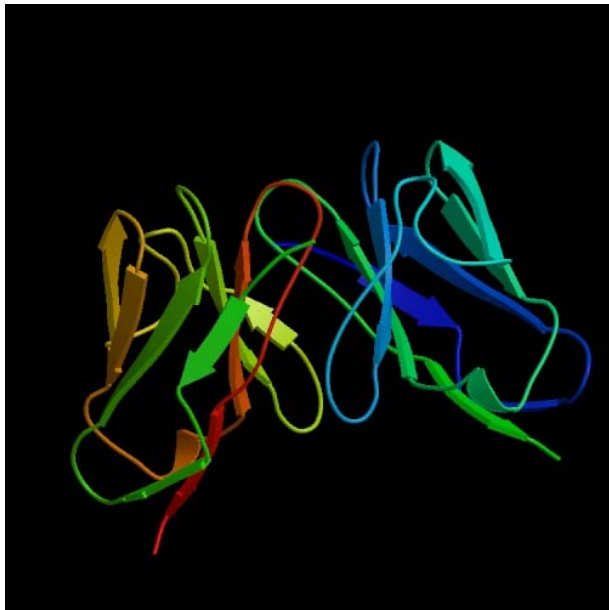
Verschiedene Auswertelgorithmen sind verfügbar

- CONTINLL (ridge regression + locally linearized model), Provencher und Glöckner (1981), van Stokkum et al. (1990)
- VARSLC (variable selection method), Johnson et al. (1986, 1987)
- CDSSTR (modification of variable selection method), Johnson et al. (1986, 1987)
- SELCON3 (singular value decomposition + self-consistent method), Sreerama and Woody (1993, 1999)
- CDNN (Neuronales Netz), Böhm et al. (1992)
- K2D (Neuronales Netz), Andrade et al. (1993)

CD-Spektren typischer Referenzproteine und Anteil Sekundärstrukturelemente



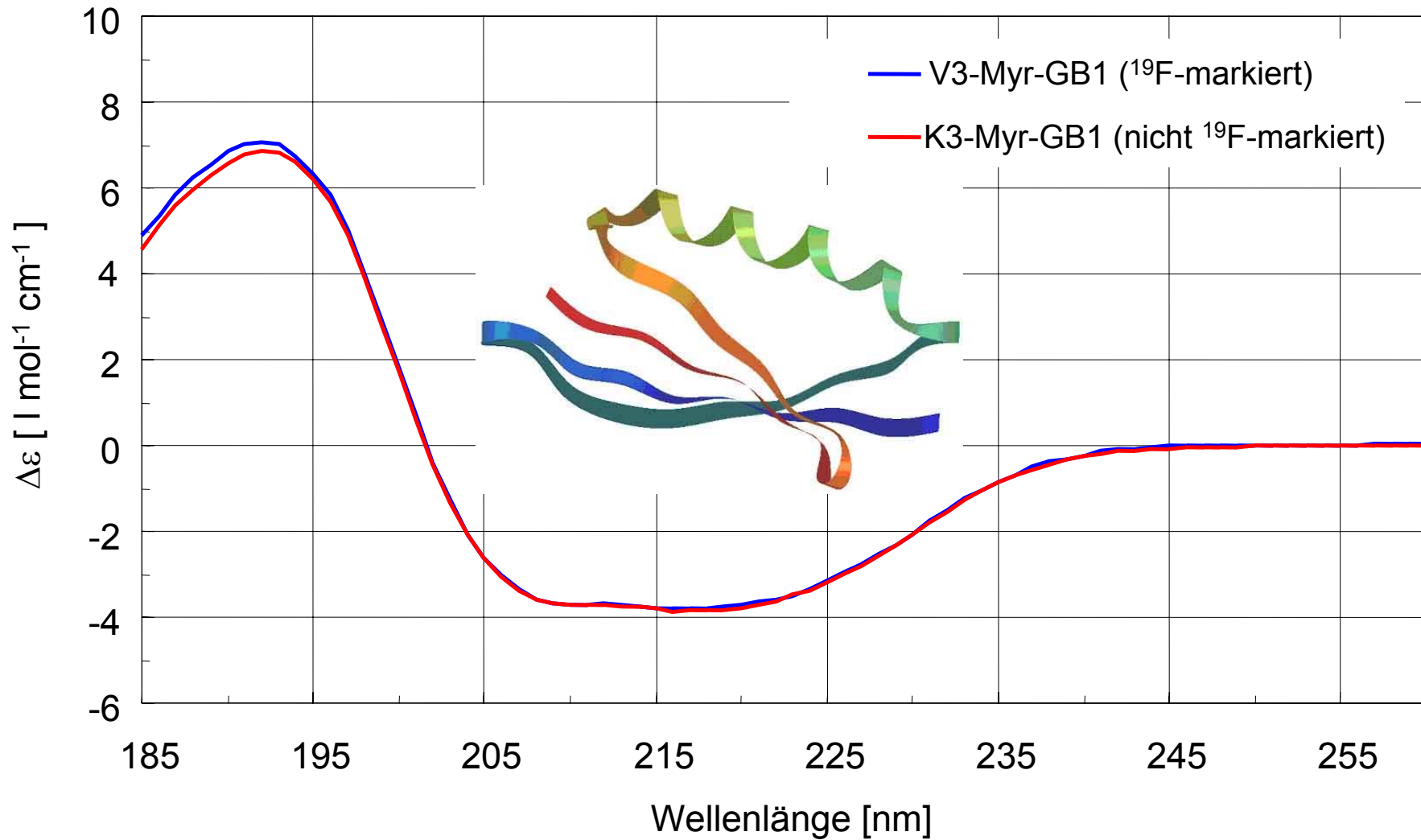
CD-Spektren typischer Referenzproteine und Anteil Sekundärstrukturelemente



Forschungszentrum Karlsruhe
in der Helmholtz-Gemeinschaft

Referenz-Datensatz	Wellenlängenbereich	Zahl der Proteine	Autor
Satz 1	178 - 260	29 Proteine	C W Johnson
Satz 2	178 - 260	23 Proteine	Johnson
Satz 3	185 - 240	37 Proteine	29 Johnson 3 Venyaminov 5 Pancoska & Keiderling
Satz 4	190 - 240	43 Proteine	32 von SELCON3 6 Provencher&Glockner 5 Pancoska & Keiderling
Satz 5	178 - 260	17 Proteine	C Johnson
Satz 6	185 - 240	42 Proteine	32 von SELCON3 5 Pancoska & Keiderling 5 denaturierte Proteine
Satz 7	190 - 240	49 Proteine	32 von SELCON3 6 von Provencher & Glockner 5 von Pancoska & Keiderling 5 denaturierte Proteine
Satz 8	178 - 260	43 Proteine	Johnson

Vergleich der GB1 CD-Spektren (^{19}F -markierte und nicht markierte Variante)



JASCO J-810 Spektropolarimeter; optische Schichtdicke: 0.1 cm; T = 20 °C

Sekundärstruktur-Analyse der beiden GB1-Varianten aus den gemessenen CD-Spektren

Resultate mit CDSSTR-Algorithmus:

Protein	Helix 1	Helix 2	Strand 1	Strand 2	Turns	Unordered	Total
V3-Myr-GB1	0.24	0.15	0.11	0.08	0.17	0.25	1.0
K3-Myr-GB1	0.24	0.15	0.11	0.08	0.17	0.26	1.01

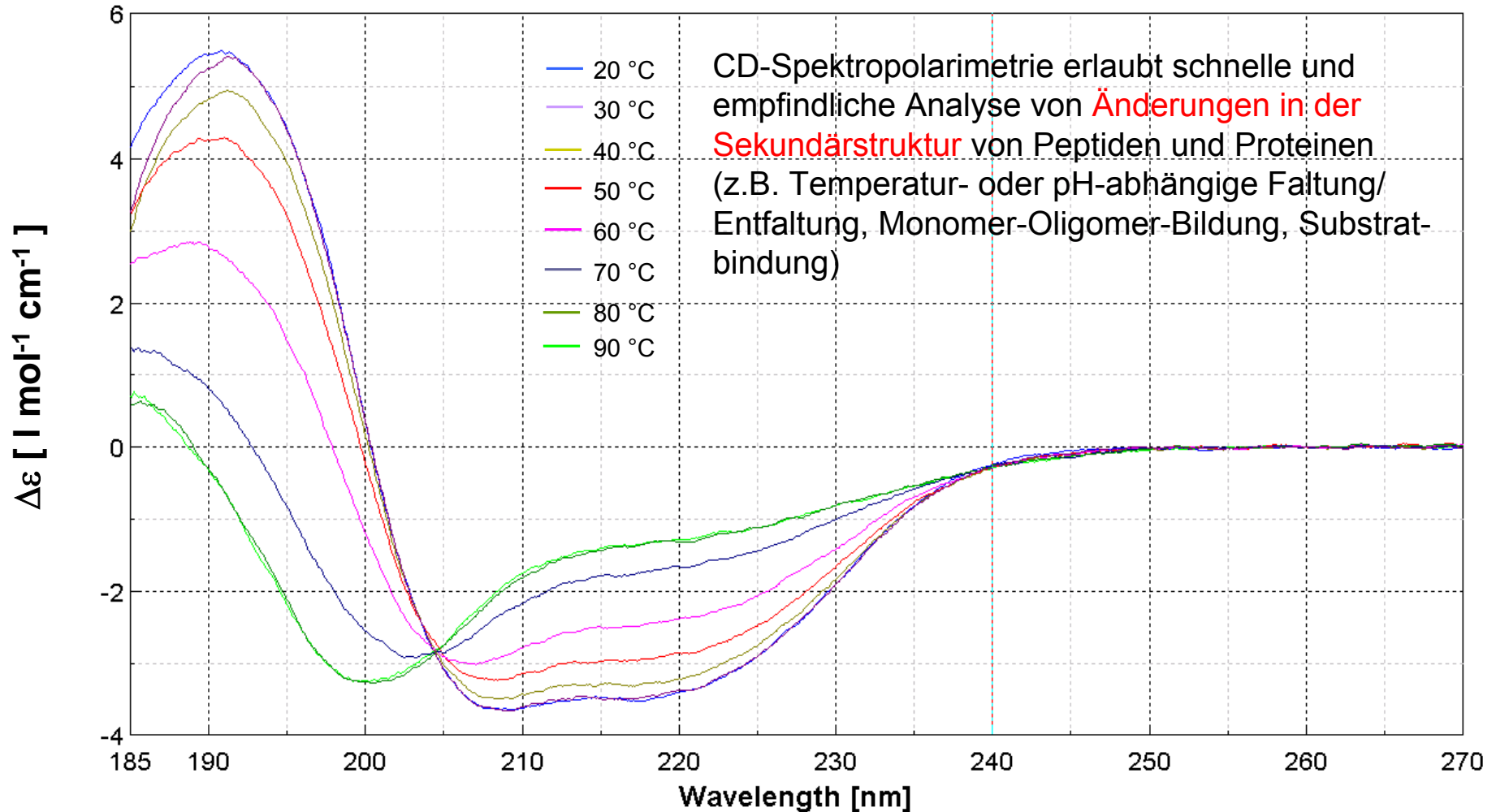
Resultate mit Contin-Algorithmus:

Protein	Helix 1	Helix 2	Strand 1	Strand 2	Turns	Unordered	Total
V3-Myr-GB1	0.221	0.149	0.090	0.073	0.173	0.294	1.0
K3-Myr-GB1	0.216	0.151	0.089	0.073	0.179	0.292	1.0

Resultate mit Selcon 3-Algorithmus:

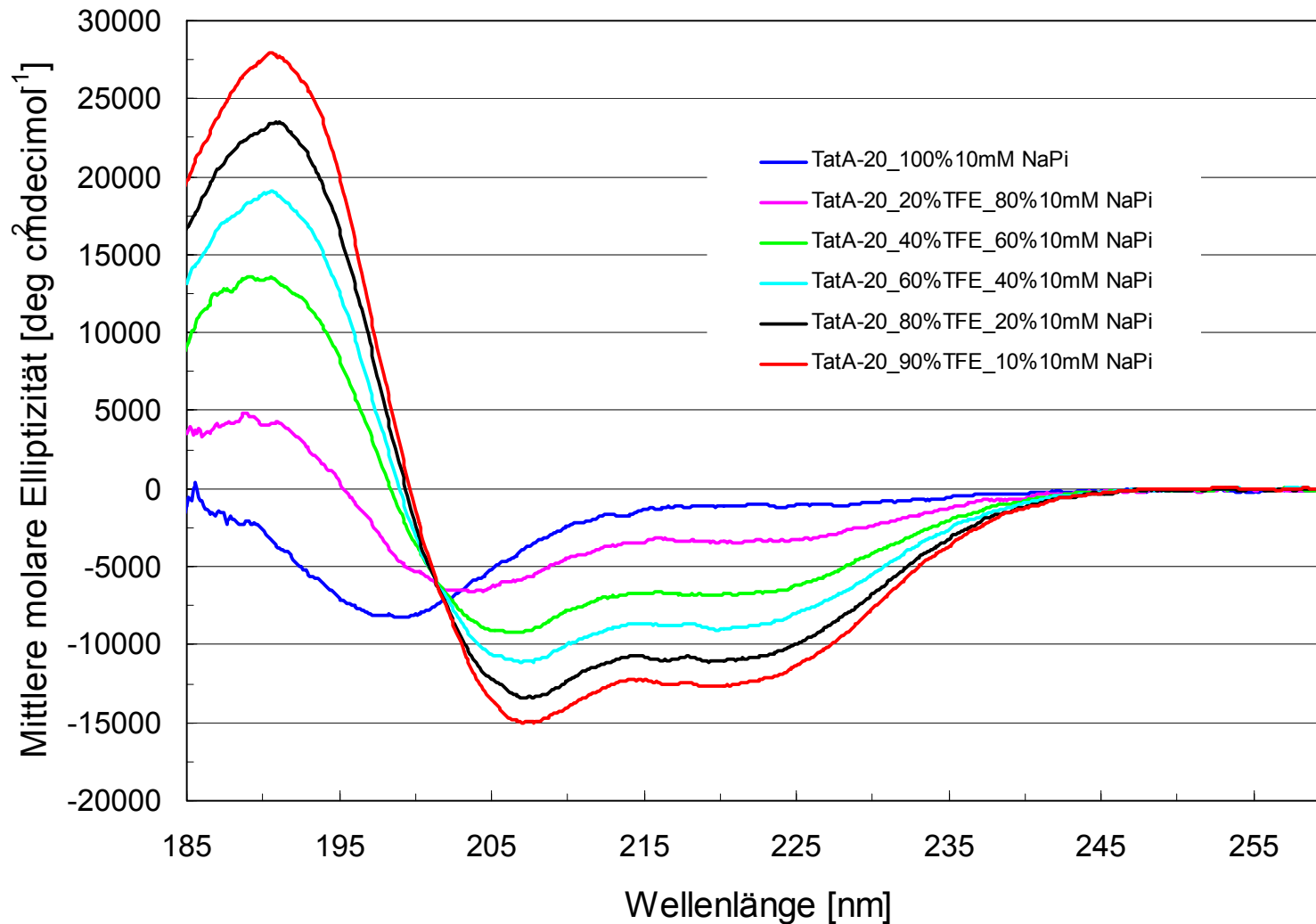
Protein	Helix 1	Helix 2	Strand 1	Strand 2	Turns	Unordered	Total
V3-Myr-GB1	0.227	0.157	0.082	0.071	0.177	0.288	1.002
K3-Myr-GB1	0.225	0.162	0.078	0.068	0.183	0.289	1.005

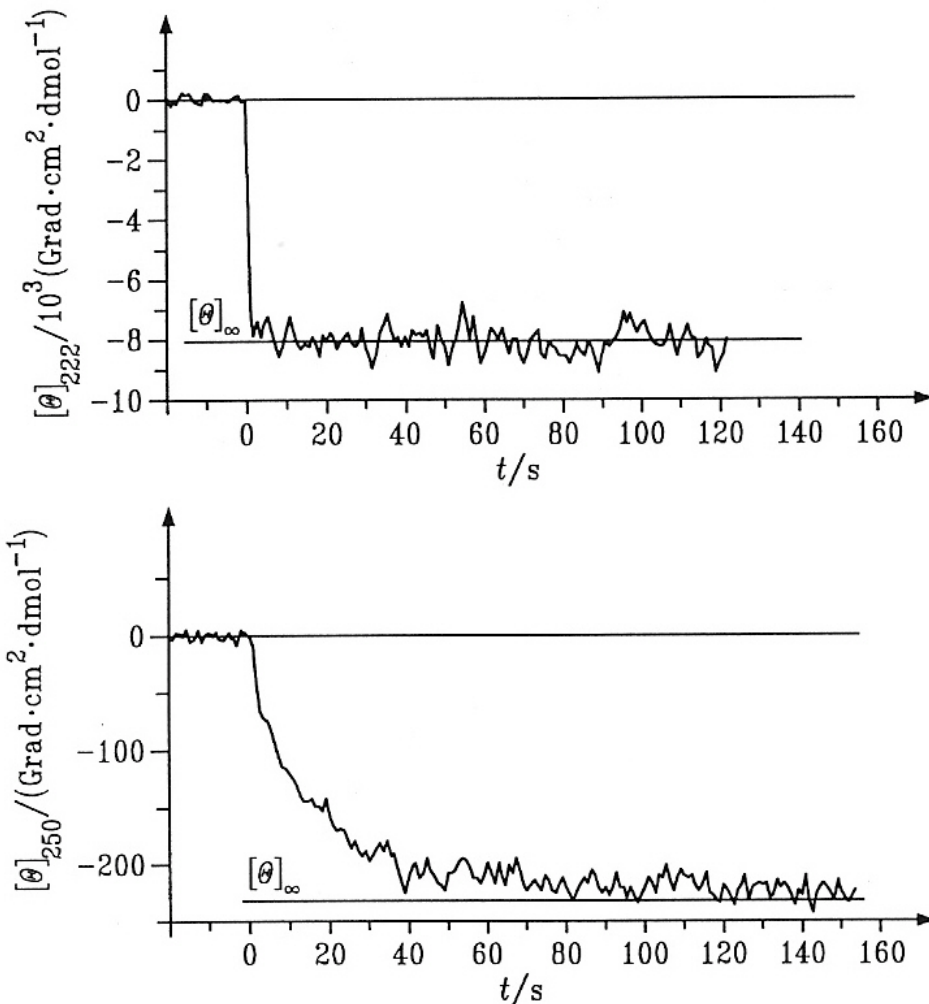
Thermische Denaturierung von V162-¹⁹F-Phe-GB1 in 10 mmol Phosphatpuffer



JASCO J-810 Spektropolarimeter; c = 0.08 mg /ml; optische Schichtdicke: 0.1 cm

Einfluss des Lösungsmittels auf Proteinsekundärstruktur von TatA





Kinetik der Rückfaltung von Lysozym
bei Gu-HCl-Konzentrationsprung
(zeitabhängiges CD-Signal bei
zwei verschiedenen Wellenlängen)

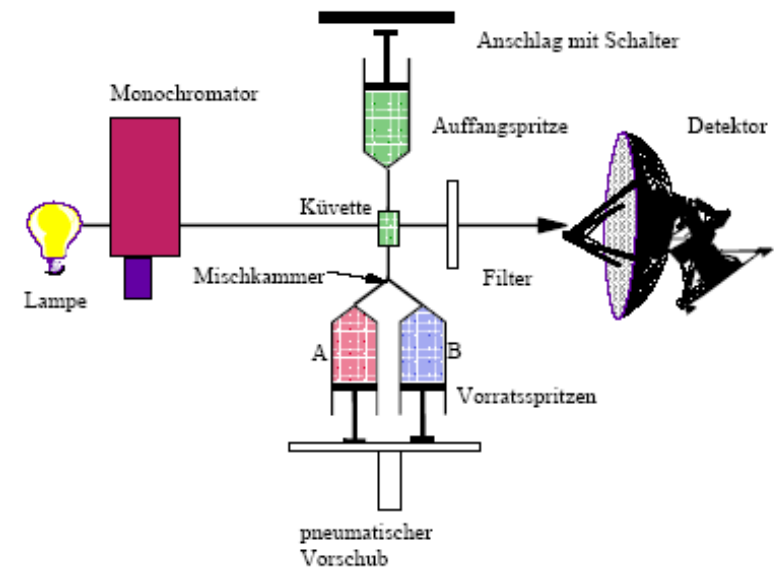
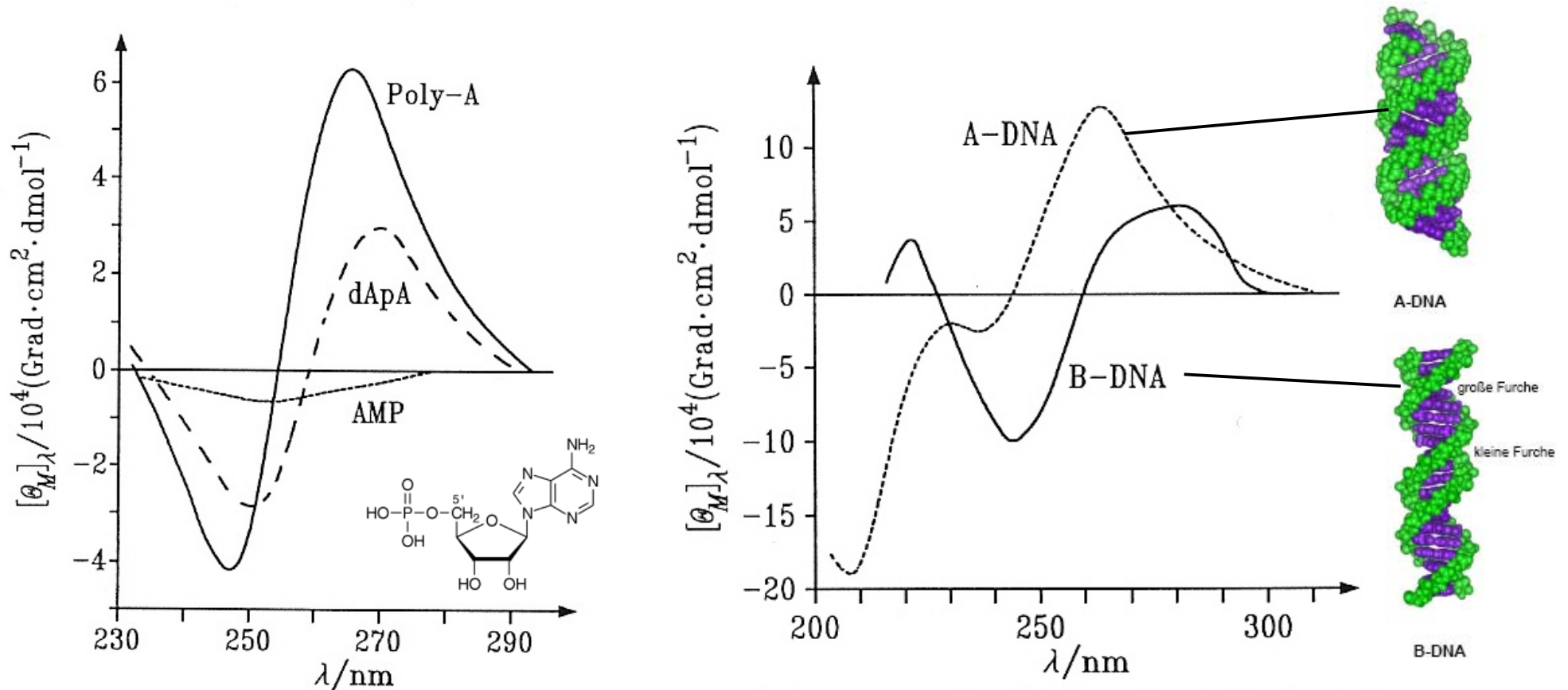


Abbildung 1: Prinzipieller Aufbau einer Stopped Flow Apparatur

Abb. V.61:

Zeitabhängigkeit der molaren Elliptizität von Lysozym bei zwei verschiedenen Wellenlängen, $T = 278 \text{ K}$ und $\text{pH} \approx 1,6$. Die Rückfaltung des Proteins wird durch einen GuHCl-Konzentrationsprung von $6,0 \text{ M}$ auf $0,3 \text{ M}$ initiiert (nach: K. Kuwajima, Y. Hiraoka, M. Ikeguchi, S. Sugai, *Biochemistry* **24** (1985) 874).

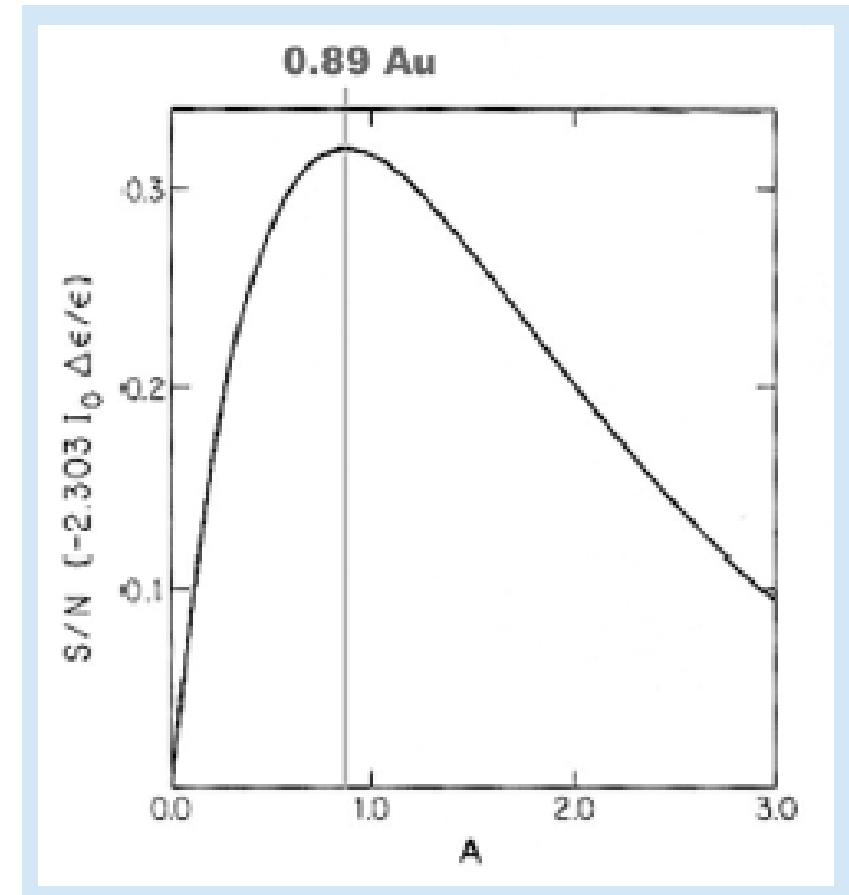
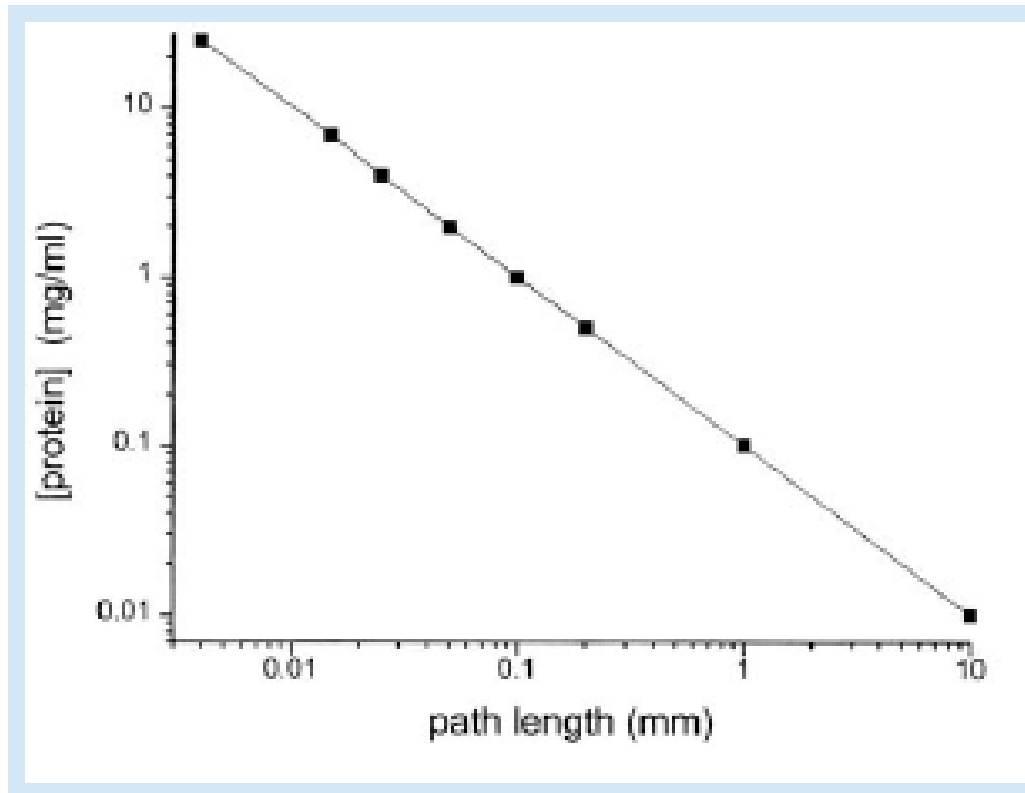
CD-Spektren von Nucleotiden und DNA



CD-Spektren von Adenosinmonophosphat unterschiedlich langer Verknüpfung: langkettig polymerisiert (Poly-A), dimerisiert (dApA) und monomer (AMP), nach van Holde, Brahm, Michelson, J. Mol. Biol. **12** (1965) 726.

CD-Spektren von DNA. A-Form liegt bei Feuchtigkeitsgehalt von 75%, B-DNA bei 95% vor; nach Campbell, Dwek, Biological Spectroscopy, S. 265 (1984).

Optimale Proteinkonzentration für CD-Messungen



Puffersysteme für CD-Analysen

Die Proteinlösung sollte nur solche Chemikalien enthalten, welche notwendig sind, um die Proteinstabilität zu erhalten!

Problem störender UV-Absorption durch Matrixkomponenten

Akzeptabel:

- Kaliumphosphat, 10 mM mit KF, K_2SO_4 oder $(NH_4)_2SO_4$ als Salz
- Hepes 2 mM
- Ammoniumacetat, 10 mM

Vermeide:

Tris, Pipes, Mes bei Konzentrationen > 10 mM

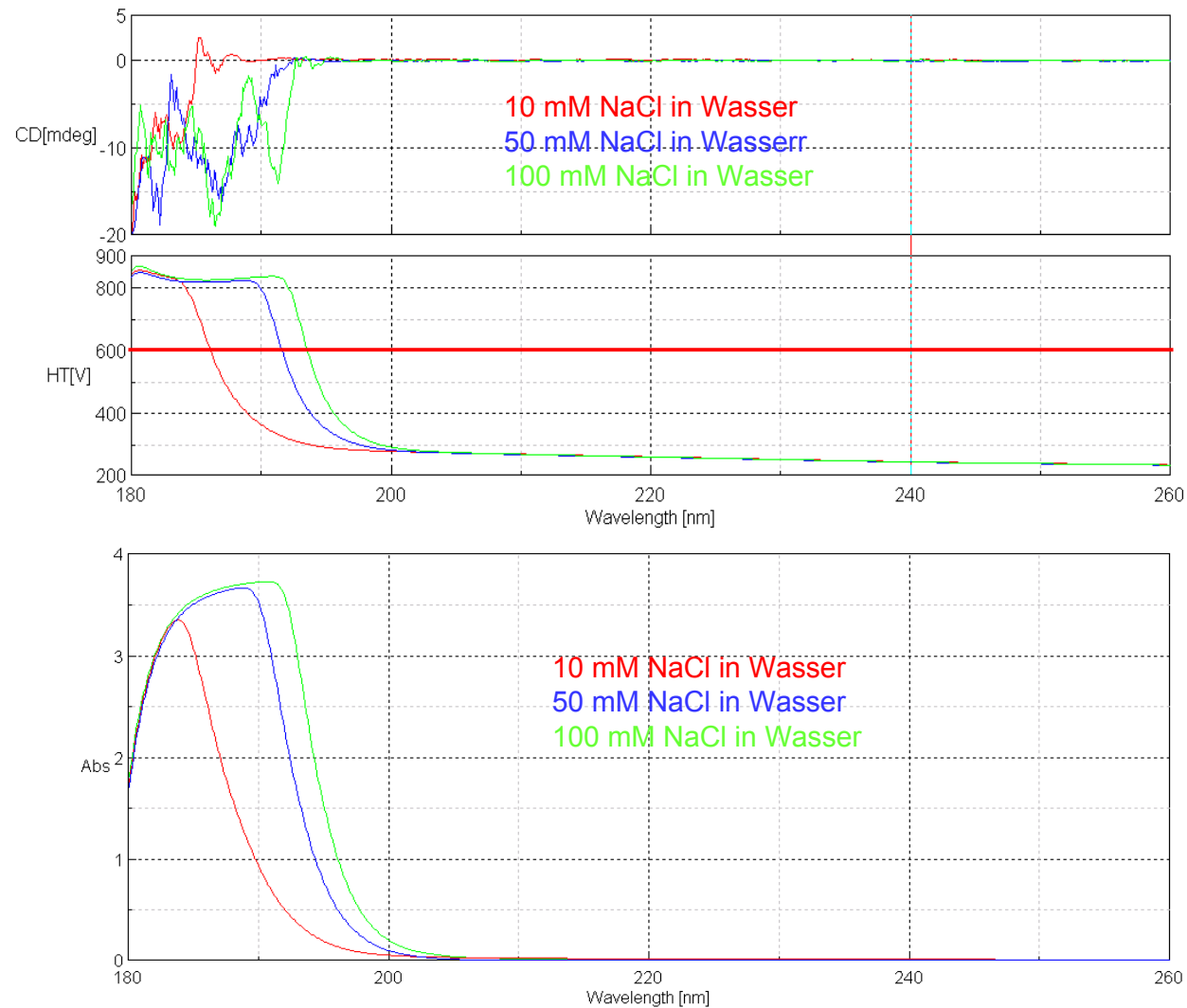
NaCl, $NaNO_3$

Alle optisch aktiven Substanzen außer Peptid / Protein, z.B. Glutamat

Kürzest mögliche Wellenlängen (nm) für verschiedene Lösungsmittel

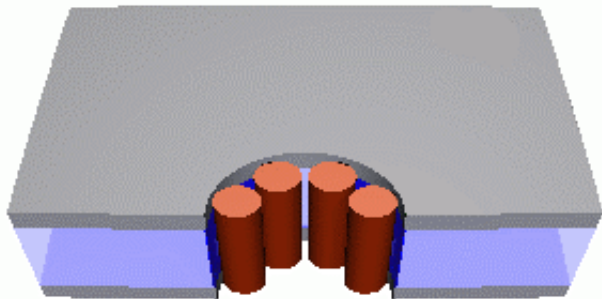
	1cm-Küvette	1mm-Küvette	0.1mm-Küvette
Wasser	185	180	175
10mM Natriumphosphat		182	
0.1 M Natriumphosphat		190	
0.1 M Natriumchlorid	200	195	
0.1 M Tris-HCl	205	200	
0.1 M Ammoniumcitrat		220	
n-Hexan	210	185	180
Schweres Wasser	175	171	
Trifluorethanol		177	170
Cyclohexan	210	185	180
Isooktan	210	185	180
Dioxan	220	210	202
Benzol	280	275	270
Tetrachlorkohlenstoff	250	240	230
Chloroform	240	230	220
1,2-Dichlorethan	220	210	200
Methanol	210	195	185
Ethanol	210	195	185
Trifluoressigsäure	260	250	240
DMSO	264	252	245
THF	220	210	204

Störung des CD-Signales durch NaCl-Untergrundabsorption im fernen UV-Bereich

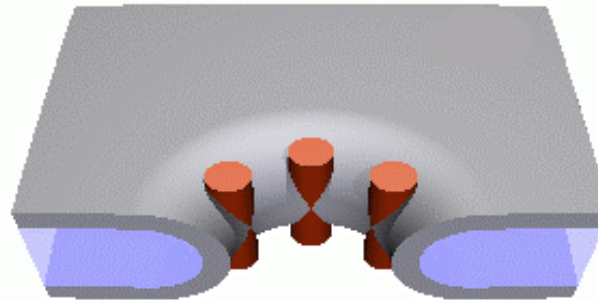


Orientierte CD-Spektropolarimetrie liefert Information über räumliche Anordnung
von Peptiden in orientierten Lipidschichten

z.B. Bildung von Transmembranporen durch antimikrobielle Peptide



„Fasddauben-Modell“ (barrel-stave model)

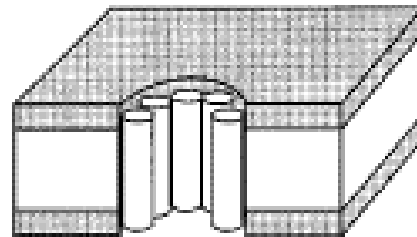


Toroidales Modell

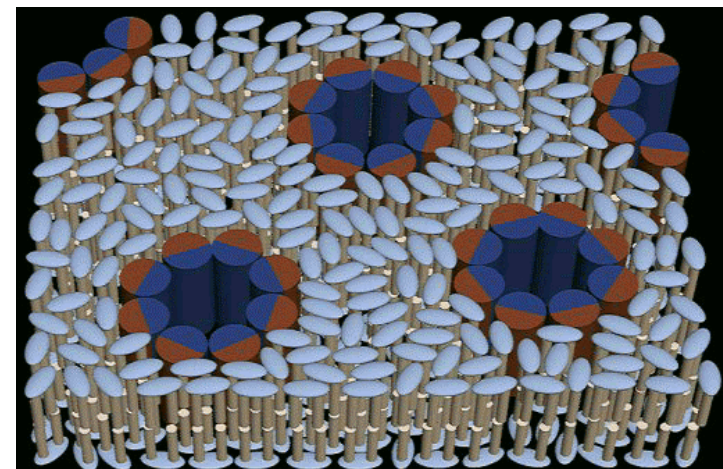
L. Yang, T. A. Harroun, T. M. Weiss, L. Ding, H. W. Huang, Biophys. J., 81 (2001) 1475.



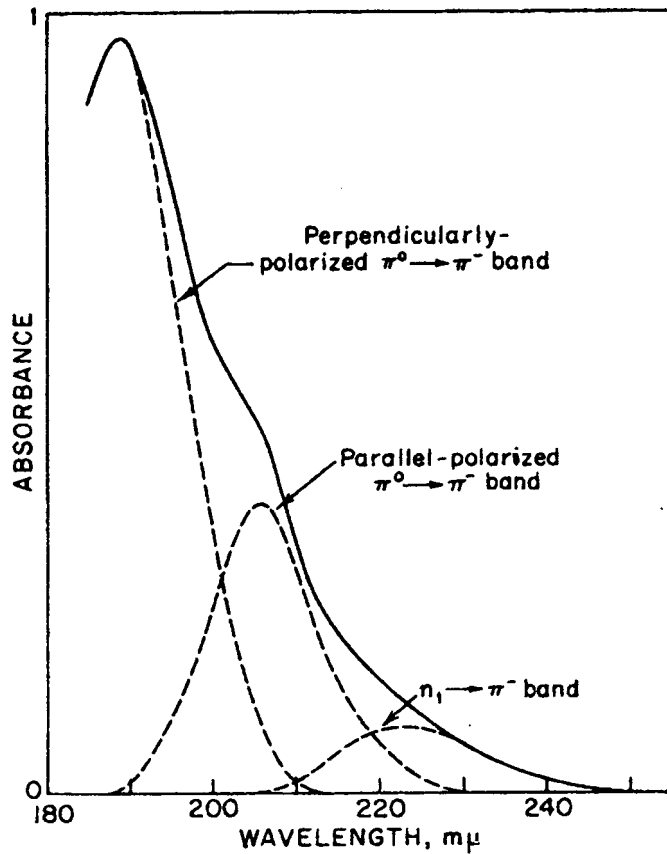
Surface state



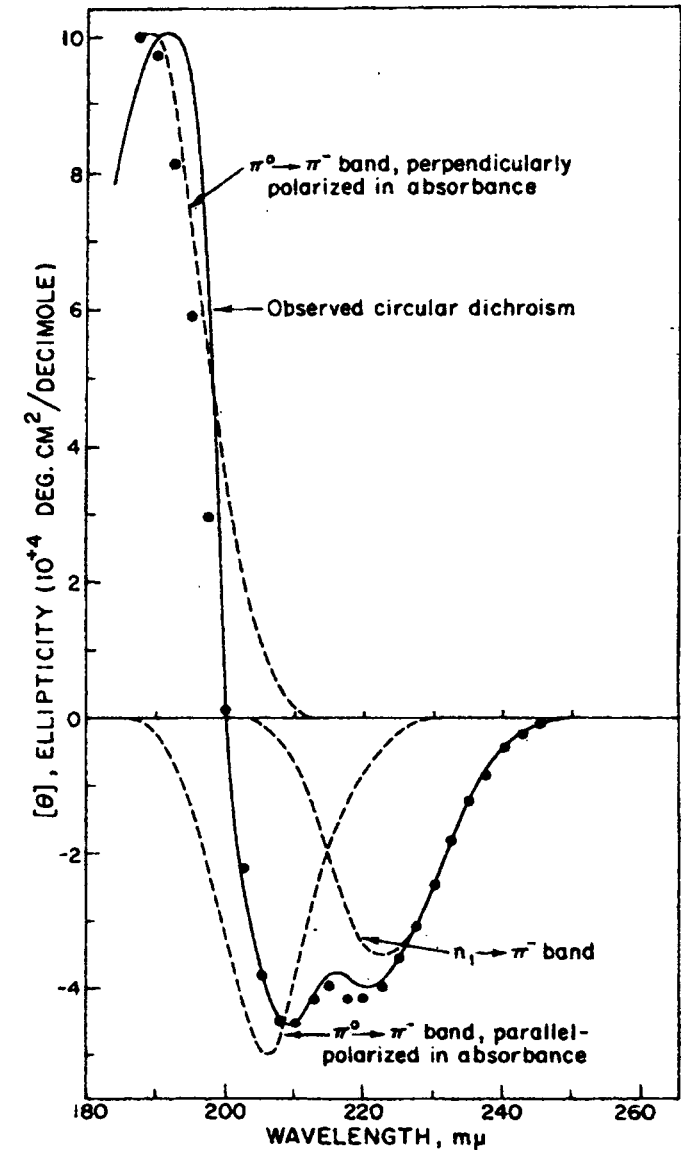
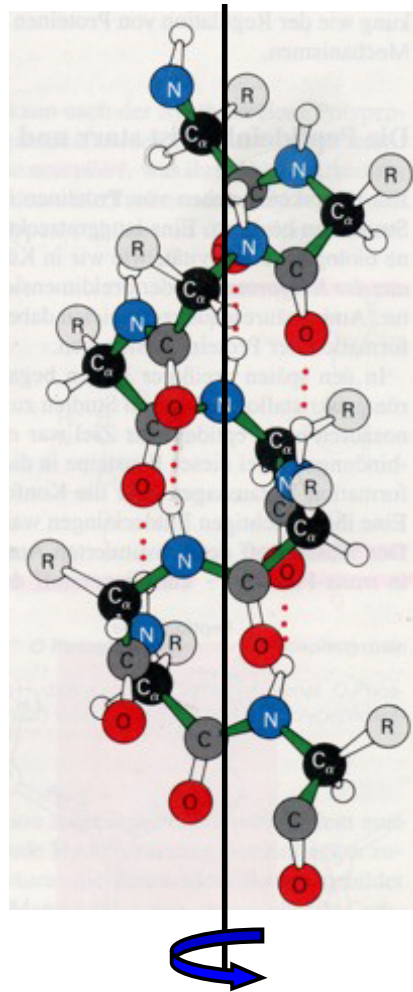
Barrel-stave model
(Alamethicin)



CD-Spektrum α -helikaler Peptide und Proteine enthält Banden deren Übergangsdipolmoment senkrecht oder parallel zur Helixachse polarisiert ist (Exziton-Aufspaltung des π^0 - π^- Übergangs)



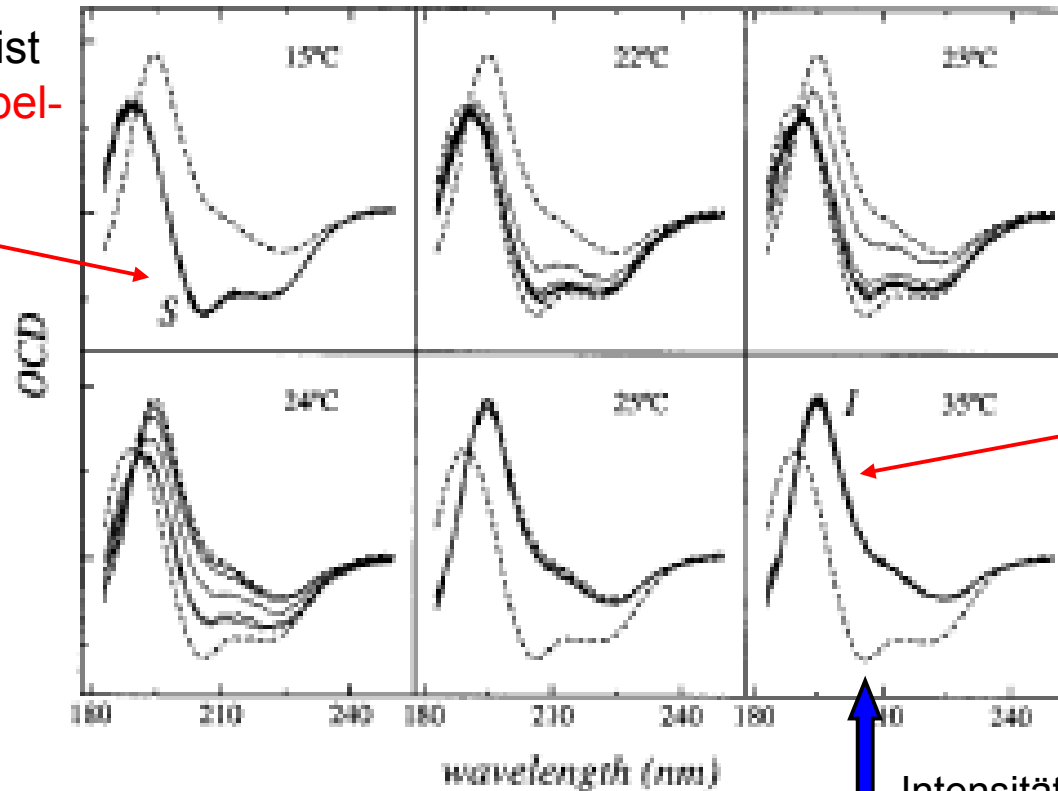
UV-Absorptionsspektrum α -helikales poly- γ -Methyl-L-glutamate



CD-Spektrum α -helikales poly- γ -Methyl-L-glutamate

CD-Spektren des Peptids Melittin in orientierten DMPC-Schichten
(Beispiel für ein Peptid mit hohem α -helikalen Anteil)

„S“-Spektrum: Peptid ist parallel zur Lipid-Doppelschicht orientiert



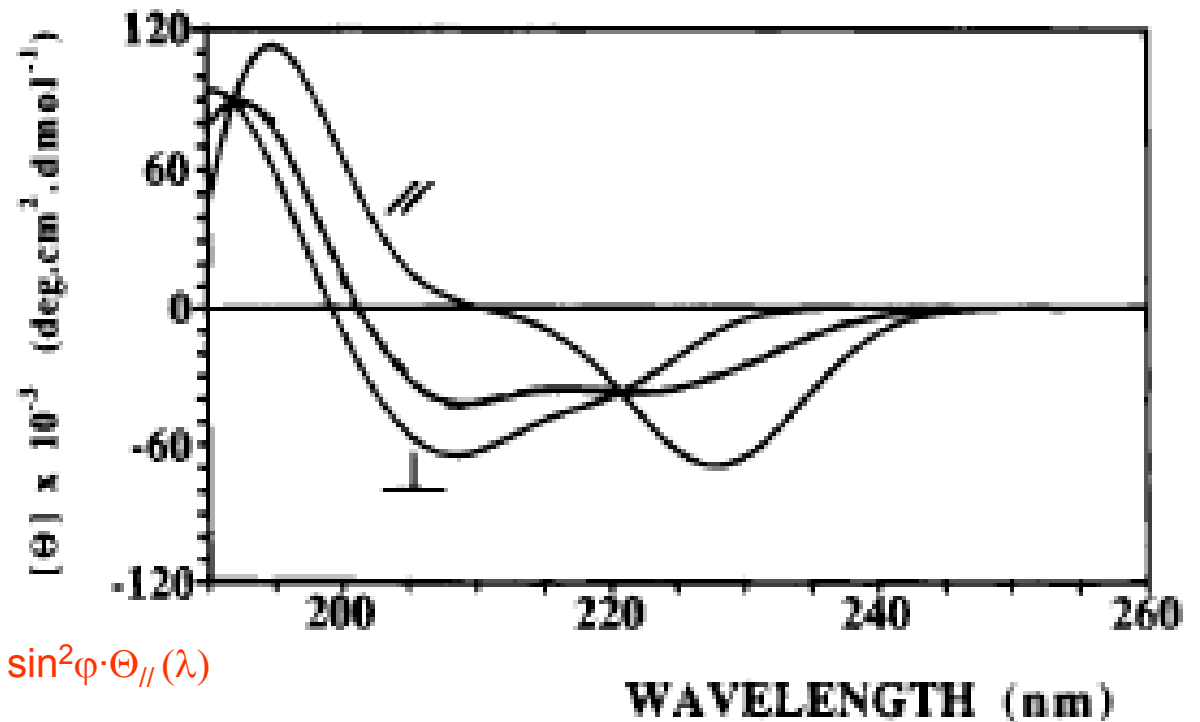
L. Yang, T. A. Harroun, T. M. Weiss, L. Ding, H. W. Huang, Biophys. J., 81 (2001) 1475.

„I“-Spektrum: Peptid ist senkrecht zur Lipid-Doppelschicht orientiert

Intensität der CD-Bande bei 207 nm ist Indikator für Orientierung

Orientierung von Peptiden in Lipid-Doppelschichten hängt u.a. von der Peptidkonzentration (bzw. dem Peptid/Lipid-Verhältnis) und dem Hydrationszustand der Peptid/Lipid-Probe ab

„Anfitten“ des gemessenen
OCD-Spektrums mit Kom-
ponenten-Spektren, welche
Licht parallel oder senk-
recht zur Helixachse
absorbieren



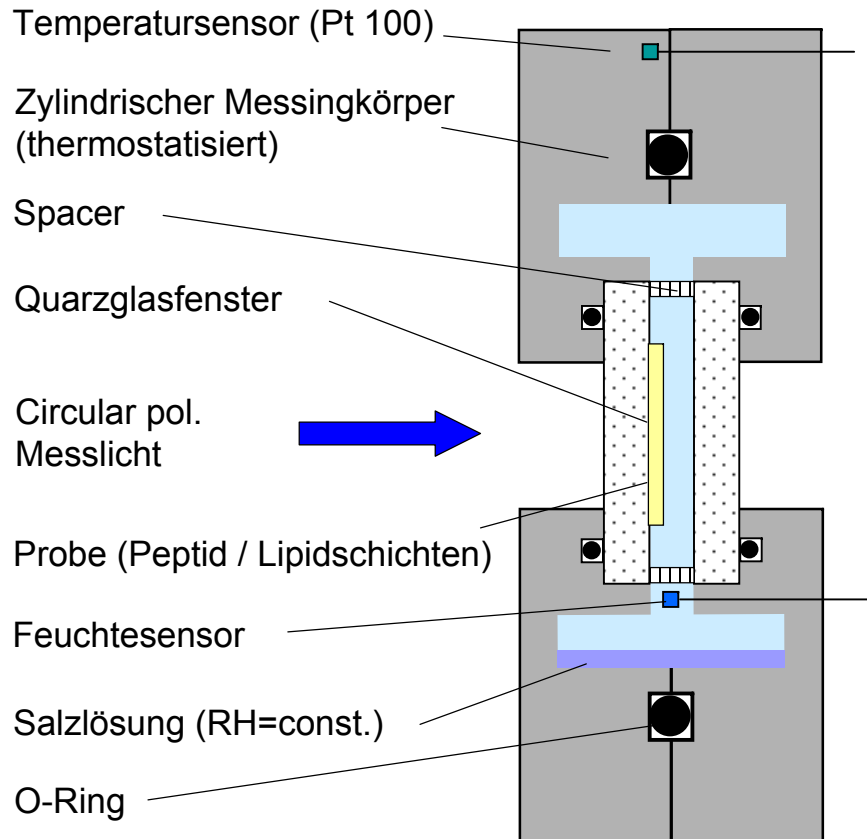
$$\Theta(\lambda) = f_{\perp} \cdot \Theta_{\perp}(\lambda) + f_{//} \cdot \Theta_{//}(\lambda) = \cos^2\varphi \cdot \Theta_{\perp}(\lambda) + \sin^2\varphi \cdot \Theta_{//}(\lambda)$$

$\Theta(\lambda)$ = Elliptizität des Proteins bei Wellenlänge λ
 f_{\perp} = Anteil der Licht senkrecht zur Helixachse absorbiert
 $f_{//}$ = Anteil der Licht parallel zur Helixachse absorbiert
 Θ_{\perp} = senkrechte Komponenten des Helix-Spektrums
 $\Theta_{//}$ = parallele Komponenten des Helix-Spektrums
 φ = Ensemble-gemittelter Winkel zwischen Helixachse und einfallendem Lichtstrahl

$O = f_{\perp} / f_{//} = \tan^2\varphi$
 O = Orientierungsparameter für Helix

H. J. de Jongh, E. Goormaghtigh, J. A. Killian,
Biochemistry, 33 (1994) 14521.

Messaufbau für Zirkulardichroismus-Messungen an Peptiden/ Proteinen in orientierten Lipid-
schichten (OCD)



G. A. Olah and H. W. Huang, J. Chem. Phys., 89 (1988) 2531.
Y. Wu, H.W. Huang, G. A. Olah, Biophys. J., 57 (1990) 797.



Rotationstisch erlaubt Drehung
der Messzelle bzw. Probe um
bis zu 360° um Strahlachse
(Vermeidung von Artefakten
durch Lineardichroismus und
Doppelbrechung)

Literatur:

Allgemeine Einführung zu Circular dichroismus in Biophysik-, Analytik- oder Spektroskopie-Lehrbüchern: z.B.

R. Winter, F. Noll, „Methoden der Biophysikalischen Chemie“, Teubner Verlag, Stuttgart, (1998), Kapitel V.4 .

C.R. Cantor & P.R. Schimmel, Biophysical Chemistry, P II. (W.H. Freeman & Company, San Francisco 1980), Kapitel 8-1.

W. C. Johnson Jr., Secondary structure of proteins through circular dichroism spectroscopy, Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem. 17 (1988) 145–166.

CD-Spektroskopie-Arbeitsgruppe:

Wo findet man uns?

Forschungszentrum Karlsruhe
Institut für Biologische Grenzflächen (IBG)
Bau 341, Raum 157 (Büro)
Raum 104 (Labor)
Tel. 07247-82-2690
Email: jochen.buerck@ibg.fzk.de

