

Protokoll Förster Resonanz Energie Transfer (FRET) an markierter DNA – E

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät
Heinrich Heine-Universität Düsseldorf

für das Modul
Pflichtpraktikum Physikalische Chemie (SMKS-P)
im Wintersemester 2025/26

Betreuende:r Assistent:in: Paul Lauterjung
Abgabedatum: 12. Januar 2026

von:
Lena-Marie Aßmann
lena-marie.assmann@hhu.de
Matrikelnr.: 3121504

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Experimentalteil | 1 |
| 2.1 | Versuchsablauf | 1 |
| 2.2 | Messergebnisse & Auswertung | 1 |
| 2.2.1 | Korrektur der Spektren | 1 |
| 2.2.2 | Berechnung von R_0 | 1 |
| 2.2.3 | Verhältnismethode | 3 |
| 2.2.4 | 3D-Modelle | 3 |
| 2.3 | Diskussion & Fehlerbetrachtung | 3 |
| 3 | Zusammenfassung | 4 |
| | Abbildungsverzeichnis | 5 |

1 Einleitung

In diesem Versuch wird mithilfe von DNA-Strängen der Abstand R_{DA} zwischen zwei Basenpaaren bestimmt. Definierten Positionen der DNA-Stränge wurden mit den Fluorophoren Alexa488 (Donor) und Cy5 (Akzeptor) markiert. Hierbei wird der Donorfarbstoff optisch angeregt und die entstehende Fluoreszenz wird detektiert. Ein Teil der Anregungsenergie des Donors wird über den Förster-Resonanz-Energietransfer (FRET) strahlungslos auf den Akzeptor übertragen, wodurch dieser ebenfalls fluoresziert. Auf diese Weise kann die Energieübertragung direkt beobachtet werden.

FRET ist nur möglich, wenn das Emissionsspektrum des Donors und das Absorptionsspektrum des Akzeptors ausreichend überlappen. Die Übertragung beruht auf einer Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen Donor und Akzeptor. In der Regel erfolgt der Transfer zwischen Singulett-Zuständen (S_1 des Donors, S_0 des Akzeptors) und wird daher als Singulett-Singulett-Transfer bezeichnet.

Die Transfereffizienz E gibt an, welcher Anteil der angeregten Donormoleküle ihre Energie erfolgreich an den Akzeptor überträgt. Da E stark vom Abstand R_{DA} abhängt, lassen sich aus den gemessenen Fluoreszenzspektren quantitative Informationen über den Abstand zwischen Donor und Akzeptor gewinnen.

2 Experimentaltteil

2.1 Versuchsablauf

Die bereitgestellten Proben wurden entsprechend des Skripts vermessen.^[1]

2.2 Messergebnisse & Auswertung

2.2.1 Korrektur der Spektren

Die Korrektur der Spektren wurden durch Abzug der Messwerte der Lösemittelmessungen von jenen der Probelösungen durchgeführt.

2.2.2 Berechnung von R_0

$$A_{\text{norm}} = \frac{A_{\text{mess}} - \text{MIN}(A_i)}{\text{MAX}(A_i) - \text{MIN}(A_i)} \quad (2.1)$$

6.1.1.(a) – Fluoreszenz- & Anregungsspektren des Lösemittels

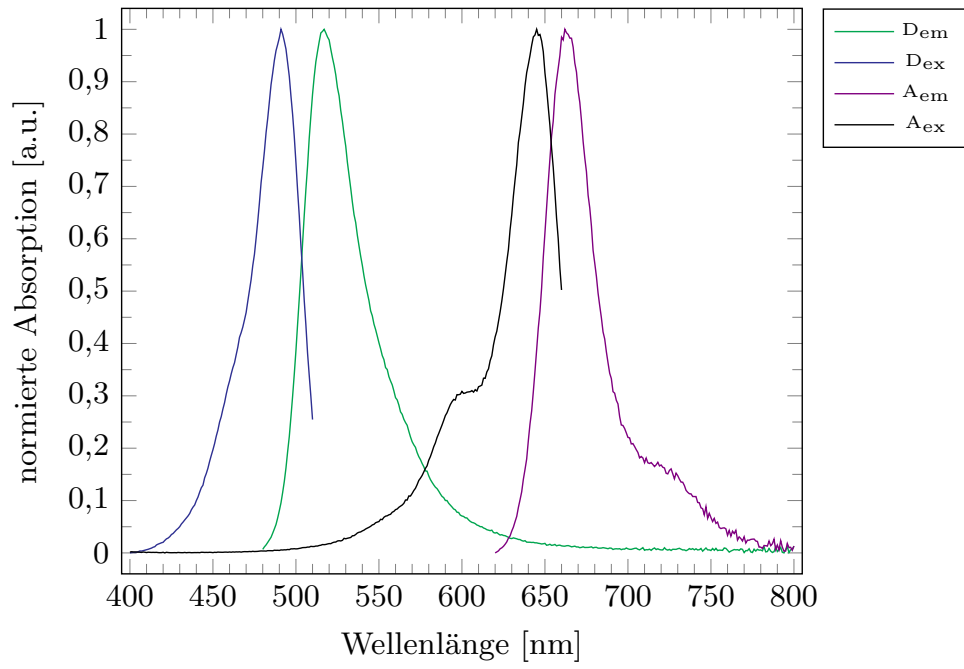


Abbildung 2.1: Fluoreszenz- & Anregungsspektren des Lösemittels, Messungen für D_{em} (—), D_{ex} (—), A_{em} (—) & A_{ex} (—).

6.1.1.(b) – Fluoreszenz- & Anregungsspektren der Proben

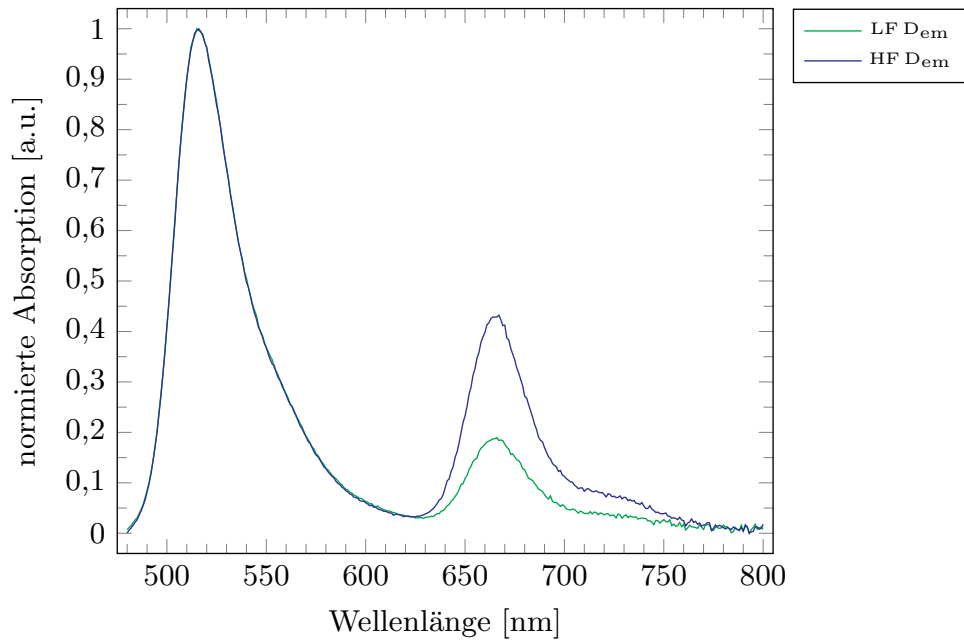


Abbildung 2.2: Fluoreszenz- & Anregungsspektren der Proben, Messungen für $LF D_{em}$ (—) & $HF D_{em}$ (—).

$$f_{D/A}(\lambda) = \frac{F_{D/A}}{\sum F_{D/A}} \quad (2.2)$$

$$\varepsilon(\lambda)_{D/A} = \frac{A_{\text{Alexa488/Cy5}}}{MAX(A_i)} \varepsilon_{\text{Alexa488/Cy5}} \quad (2.3)$$

$$J = \int_{480}^{660} f_D(\lambda) \varepsilon(\lambda)_A \lambda^4 d\lambda \quad (2.4)$$

$$R_0 = 0,2108 \sqrt[6]{\kappa^2 \Phi_D n^{-4} J} \quad (2.5)$$

2.2.3 Verhältnismethode

2.2.4 3D-Modelle

2.3 Diskussion & Fehlerbetrachtung

3 Zusammenfassung

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|-----|---|---|
| 2.1 | Fluoreszenz- & Anregungsspektren des Lösemittels. | 2 |
| 2.2 | Fluoreszenz- & Anregungsspektren der Proben. | 2 |

Literatur

- [1] Versuchsanleitungen zum Physikalisch-chemischen Praktikum (PC-P), Institut für Physikalische Chemie Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2026**.