

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Phototropin</b>	<b>3</b>
2.1	Funktion . . . . .	3
2.2	Struktur . . . . .	4
2.2.1	Die LOV-Domäne . . . . .	4
2.2.2	Die Kinasedomäne . . . . .	6
2.3	Mechanismus . . . . .	8
2.3.1	Der Photozyklus der LOV-Domäne . . . . .	8
2.3.2	Von der Adduktbildung zur Antwort der Kinasedomäne . . . . .	12
2.4	Proben . . . . .	16
2.4.1	LOV2-Domäne aus <i>Arabidopsis</i> Phototropin 2 . . . . .	16
2.4.2	Konstrukte des Phototropins aus <i>Chlamydomonas</i> . . . . .	17
2.4.3	Bioinformatik . . . . .	19
<b>3</b>	<b>Schwingungsspektroskopie</b>	<b>20</b>
3.1	Die FT-IR Spektroskopie . . . . .	21
3.1.1	Grundlagen . . . . .	21
3.1.2	Zeitaufgelöste FT-IR Spektroskopie . . . . .	22
3.2	Schwingungsspektroskopie an Proteinen . . . . .	24
3.3	Das Differenzspektrum der LOV2-Domäne . . . . .	26
3.4	Experimente . . . . .	28
3.4.1	Lichtinduzierte Differenzspektroskopie . . . . .	28

3.4.2	Rapid-Scan im Millisekundenbereich . . . . .	29
3.4.3	Step-Scan im Mikrosekundenbereich . . . . .	32
3.4.4	Step-Scan an irreversiblen Systemen . . . . .	34
3.5	Probenvorbereitung . . . . .	35
3.6	Datenanalyse . . . . .	37
3.6.1	Differenzspektroskopie . . . . .	37
3.6.2	Singularwertzerlegung . . . . .	37
3.6.3	Globalfit . . . . .	38
<b>4</b>	<b>Der Photozyklus der LOV-Domäne</b>	<b>40</b>
4.1	Einfluss der I403V-Mutation in LOV2 . . . . .	41
4.2	Der Triplettzustand . . . . .	41
4.2.1	Der Spektralbereich 1800 - 1200 $\text{cm}^{-1}$ . . . . .	43
4.2.2	Der Spektralbereich 2600 - 2400 $\text{cm}^{-1}$ . . . . .	46
4.3	Die Adduktintermediate . . . . .	48
4.4	Die Rückreaktion in den Grundzustand . . . . .	52
4.5	Photochemie von Flavin in Lösung . . . . .	53
4.6	Diskussion . . . . .	56
4.6.1	Der Mechanismus der Adduktbildung ausgehend vom Triplettzustand . . . . .	57
4.6.2	Die Deprotonierung des Cysteins . . . . .	61
4.6.3	Die Reaktion des Apoproteins auf die Adduktbildung . . . . .	65
<b>5</b>	<b>Signalweiterleitung im Phototropin</b>	<b>70</b>
5.1	Die Wasserabhängigkeit der Blaulichtreaktion . . . . .	71
5.2	Die $J\alpha$ -Helix . . . . .	74
5.3	Die aktive Kinase . . . . .	76
5.4	Mutanten . . . . .	78
5.4.1	Deletion der $J\alpha$ -Helix . . . . .	78
5.4.2	Deletion der Erweiterung in der Aktivierungsschleife . . . . .	78
5.5	Diskussion . . . . .	81

<i>Inhaltsverzeichnis</i>	III
5.5.1 Die lichtinduzierte Entfaltung der J $\alpha$ -Helix . . . . .	81
5.5.2 Lichtinduzierte Änderungen innerhalb der Kinasedomäne	82
5.5.3 Änderungen in der Phototropin-spezifischen Erweiterung der Aktivierungsschleife . . . . .	85
5.5.4 Modell der Kinaseaktivierung . . . . .	87
<b>6 Zusammenfassung</b>	<b>91</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>95</b>
<b>Anhang</b>	<b>105</b>