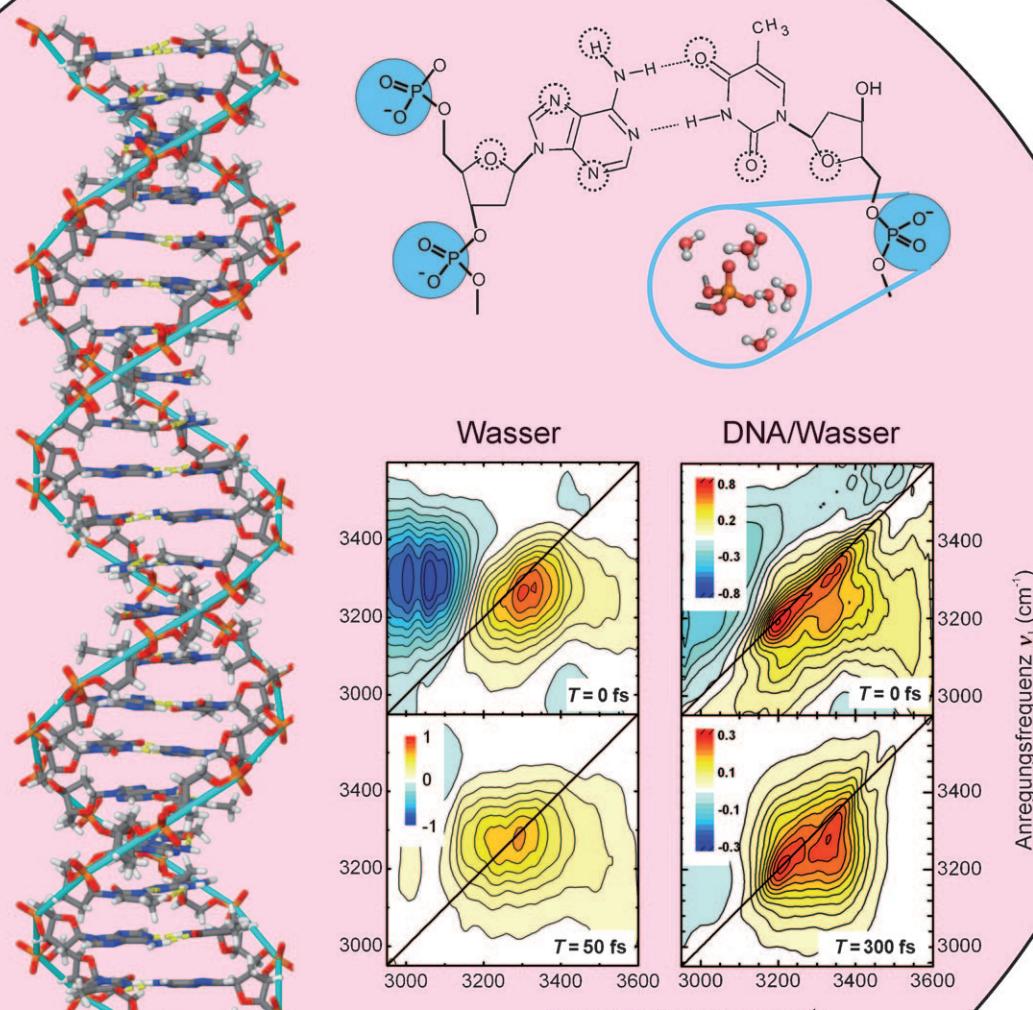


Ultraschnelle Schwingungsdynamik und lokale Wechselwirkungen in hydratisierter DNA

Lukasz Szyc, Ming Yang, Erik T. J. Nibbering und Thomas Elsaesser*

Stichwörter:

Energiedissipation · Femtosekunden-Schwingungsspektroskopie · Hydratisierte DNA · Wasser · Wasserstoffbrücken



Biochemische Prozesse laufen überwiegend in wässriger Umgebung ab. Eine Schlüsselrolle für Struktur und Funktion von Biomolekülen spielt dabei die Wechselwirkung mit Wassermolekülen. Desoxyribonukleinsäure (DNA), der grundlegende Träger genetischer Information, liegt im Gleichgewicht in einer Doppelhelixstruktur vor, die durch zwischenmolekulare Wasserstoffbrücken in Basenpaaren zusammengehalten und durch eine Umgebung von Wassermolekülen mit fluktuierenden Wasserstoffbrücken hydratisiert wird. Elementare Schwingungsbewegungen hydratisierter DNA und die schnellsten Veränderungen der DNA-Wasser-Wechselwirkung und der Hydratisierungsgeometrien treten im Zeitbereich unterhalb 1 ps auf. Methoden der nichtlinearen Ultrakurzzeit-Schwingungsspektroskopie bieten Zugang zu diesen Prozessen, indem die Schwingungsdynamik von DNA und Wasser zeitaufgelöst verfolgt wird. Derartige Untersuchungen führen zu einem detaillierten Verständnis von DNA-Schwingungen und ihrer Dynamik und geben Einblick in die Nichtgleichgewichtseigenschaften und -strukturen hydratisierter DNA.

1. Einleitung

Die Wechselwirkung von DNA mit Wassermolekülen der Umgebung ist entscheidend für die Stabilisierung der makromolekularen Struktur der Doppelhelix und für die elektrische Abschirmung geladener und polarer Gruppen, etwa der Phosphatgruppen im DNA-Rückgrat und der Gegenionen.^[1-3] Änderungen des Hydratisierungsgrades führen zu Konformationsänderungen der DNA-Helix, beispielsweise zu einem Übergang aus der A-Form bei niedrigem Wassergehalt zur vollständig hydratisierten B-Form.^[4,5] Die Kopplung zwischen DNA und wässriger Umgebung ermöglicht den Austausch von Energie, weshalb sie eine Schlüsselrolle für Nichtgleichgewichtsprozesse spielen sollte, etwa die Dissipation von Überschussenergie aus dem Zerfall von elektronischen und Schwingungsanregungen.

Bisher wurden hydratisierte DNA-Strukturen vorwiegend unter quasi-stationären Bedingungen untersucht, wofür Techniken der Röntgenbeugung, Neutronenstreuung und spektroskopische Methoden eingesetzt wurden, darunter die Schwingungsspektroskopie.^[2,6-10] Diese stationären Methoden haben zu einer hochgenauen Charakterisierung der zeitlich gemittelten Strukturen zahlreicher DNA-Systeme geführt. Die Wechselwirkung zwischen DNA und Wasser wurde anfänglich beschrieben durch eine erste Hydratisierungshülle aus Wassermolekülen, die direkt mit bestimmten funktionellen Gruppen der DNA wechselwirken, und eine zweite Hydratisierungshülle mit Eigenschaften, die denen des reinen Wassers ähneln.^[2] Dieses qualitative statische Bild wurde durch umfangreiche Kernspinresonanz-Experimente (NMR) verfeinert, aus denen sich die Stärke der Wechselwirkung mit und die Verweilzeiten von Wassermolekülen an bestimmten Bindungsstellen ergaben.^[4,11-13] Im thermischen Gleichgewicht bei Temperaturen um 300 K wurden Verweilzeiten von ungefähr 10 ps bis in den Nanosekundenbereich

aus den NMR-Daten abgeleitet. Dieser Zeitbereich ist in Übereinstimmung mit theoretischen molekulardynamischen Berechnungen (MD), welche jedoch eine sehr viel schnellere intrinsische Dynamik der Wasserhülle um die DNA nahelegen.^[14,15]

Auf molekularer Ebene ist die Wechselwirkung von DNA mit Wasser durch ein kompliziertes Wechselspiel lokaler Wasserstoffbrücken und langreichweiterer Coulomb-Kräfte gekennzeichnet.^[14-16] Die Struktur von Wasser und damit die Wasser-DNA-Wechselwirkung fluktuieren auf Zeitskalen zwischen weniger als 50 fs und Nanosekunden mit einer durchschnittlichen Lebensdauer der Wasserstoffbrücken zwischen Wassermolekülen von ca. 1 ps.^[17-19] Elementare Änderungen der Molekülgeometrien wie schnelle Rotationen und die Umorientierung und das Brechen von Wasserstoffbrücken treten im Ultrakurzzeitbereich weniger Pikosekunden auf, der durch NMR nicht direkt zugänglich ist. Optische Methoden mit einer Zeitauflösung im Femtosekundenbereich ermöglichen hingegen die zeitaufgelöste Beobachtung der ultraschnellen Dynamik hydratisierter DNA und eine Trennung der verschiedenen Prozesse über ihre unterschiedliche Zeitskala.

Die Dynamik von Wasser an der Oberfläche der DNA wurde anhand von zeitaufgelösten Fluoreszenzspektren von Chromophoren untersucht, die in die DNA-Struktur eingebaut waren.^[20-22] Die photoinduzierte Dipoländerung des Chromophors induziert einen Solvationsprozess, in dem die Energie des angeregten emittierenden Zustandes durch eine Reorientierung der umgebenden Wassermoleküle abgesenkt wird. Die Pikosekunden-Zeitskala derartiger Änderungen

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	3681
2. Schwingungseigenschaften von Wasser und hydratisierter DNA	3683
3. Nichtlineare Femtosekunden-Schwingungsspektroskopie und DNA-Proben	3685
4. Ultraschnelle Schwingungsdynamik und Schwingungskopplungen in hydratisierter DNA	3687
5. Energiedissipation im Nichtgleichgewicht und Hydratisierungsdynamik	3691
6. Zusammenfassung und Ausblick	3692

[*] Ł. Szyb, M. Yang, Dr. E. T. J. Nibbering, Prof. Dr. T. Elsaesser
Max-Born-Institut für Nichtlineare Optik und Kurzzeitspektroskopie
Max-Born-Straße 2A, 12489 Berlin (Deutschland)
E-Mail: elsasser@mbi-berlin.de

der Wasserstruktur wurde aus der zeitlichen Entwicklung der entsprechenden Rotverschiebung der Emission bestimmt und in theoretischen Simulationen analysiert.^[22–24]

Spezielle funktionelle Gruppen innerhalb der DNA und lokale Wechselwirkungen werden durch Schwingungsspek-

toskopie zugänglich. Diese Selektivität gestattet die Untersuchung der Wechselwirkung nichtsubstituierter DNA mit Wasser im elektronischen Grundzustand.^[7–10] Abbildung 1 zeigt die Schwingungsabsorptionsspektren von reinem Wasser (a) und DNA-Oligomeren (b) für verschiedene Hydratisierungsgrade (DNA-Struktur in Abbildung 2a,b). Obwohl die spektrale Form der Banden die mikroskopischen Wechselwirkungen in zeitintegrierter Form widerspiegelt, kann hieraus keine genaue Information über die mikroskopische Dynamik gewonnen werden.

In den letzten Jahren hat sich die nichtlineare Schwingungsspektroskopie mit einer Zeitauflösung im Femtosekundenbereich zu einer wichtigen Methode für die Untersuchung der ultraschnellen Struktur- und Schwingungsdynamik wässriger Systeme entwickelt, insbesondere von reinem H_2O und isotopenverdünntem HOD in H_2O oder D_2O .^[25–43] Die Analyse des nichtlinearen Verhaltens ermöglicht eine Unterscheidung zwischen Strukturdynamik und Relaxationsprozessen über die jeweiligen Zeitskalen und eine Bestimmung von intramolekularen Kopplungen, System-Bad-Wechselwirkungen und Relaxationszeiten. Umfangreiche theoretische Arbeiten, die wesentlich auf MD-Simulationen beruhen, haben ein klares Bild der zugrundeliegenden mikroskopischen Prozesse geschaffen. Schwingungsspektroskopie im Ultrakurzzeitbereich wurde auch auf biomolekulare Systeme angewendet, etwa Proteine, Peptide und lichtsammelnde Komplexe.^[44] Untersuchungen von DNA existieren jedoch nur in sehr begrenztem Umfang.^[45,46]

In diesem Aufsatz stellen wir neue Ergebnisse zur Wechselwirkung von DNA und Wasser im Femto- und Pikosekunden-Zeitbereich vor. Unterschiedliche Techniken der Ultrakurzzeit-Infrarotspektroskopie wurden eingesetzt, um die NH-Streckschwingungen von Adenin-Thymin(A-T)-Basenpaaren in DNA von der OH-Streckschwingungsabsorption des umgebenden Wassers zu trennen und die Dynamik und Kopplungen dieser Schwingungen zu bestimmen. Messungen bei verschiedenen Hydratisierungsgraden gestatten eine klare Zuordnung transienter Absorptionsbanden zu spezifischen Schwingungen. Wir diskutieren darüber hinaus die Schwingungsdynamik von Phosphatgruppen im DNA-Rückgrat, die eine prominente Rolle für die Hydratisierung spielen und stark mit Wasser wechselwirken. Wir zeigen, dass die Hydrathüllen um die Phosphatgruppen von großer Bedeutung für die Dissipation von Überschussenergie aus der DNA sind und messen zeitabhängige Phosphat-Wasser-Wechselwirkungen.

Der Aufsatz ist in folgender Weise gegliedert: Abschnitt 2 enthält eine Zusammenfassung der Literatur zur ultraschnellen Struktur- und Schwingungsdynamik von reinem Wasser und eine Diskussion der Schwingungseigenschaften von DNA unter stationären (Gleichgewichts-)Bedingungen. Grundlegende Methoden der Femtosekunden-Schwingungsspektroskopie und die Herstellung von DNA-Dünnfilmproben werden in Abschnitt 3 beschrieben. Neue Ergebnisse zu Schwingungsdynamik und Schwingungskopplungen hydratisierter DNA werden in Abschnitt 4 vorgestellt, Ergebnisse zur ultraschnellen Hydratisierungsdynamik dann in Abschnitt 5. Abschnitt 6 enthält schließlich eine Zusammenfassung und einen kurzen Ausblick.



Von links nach rechts: M. Yang, Ł. Szcyc, E. Nibbering, T. Elsaesser

Ming Yang wurde 1979 in Nanjing (China) geboren. Er erhielt seinen Bachelor of Optical Engineering im Jahr 2000 von der National University of Defense Technology (Changsha). Im Jahr 2007 beendete er sein Master-Studium am Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Science, wo er die Wechselwirkung ultrakurzer und -intensiver Laserimpulse mit Materie untersuchte (Betreuer Prof. Jiansheng Liu). Seit 2007 erforscht er als Doktorand am Max-Born-Institut die ultraschnelle Dynamik von Wasserstoffbrücken in DNA-Modellsystemen.

Łukasz Szcyc wurde 1982 in Sieradz (Polen) geboren. Er erhielt seinen Master-Abschluss in Chemie im Jahr 2006 an der Universität Wrocław, wo er Übergänge in der Sekundärstruktur von Polypeptiden untersuchte. Im Jahr 2007 begann er seine Doktorarbeit am Max-Born-Institut über die Ultrakurzzeitdynamik biologisch relevanter Wasserstoffbrückensysteme, insbesondere hydratisierter DNA-Filme.

Erik T. J. Nibbering (*1965) studierte Chemie an der Vrije Universiteit Amsterdam (Niederlande) und erhielt 1988 sein Diplom in physikalischer Chemie. In seiner Doktorarbeit bei Prof. D. A. Wiersma an der Rijksuniversiteit Groningen untersuchte er von 1988 bis 1993 die Dephasierungs- und Solvatationsdynamik in Flüssigkeiten mit optischen Femtosekundenmethoden. Nach einem zweijährigen Aufenthalt am Laboratoire d'Optique Appliquée—E.N.S.T.A.—École Polytechnique (Palaiseau, Frankreich) bei Prof. A. Mysrowicz kam er 1995 an das Max-Born-Institut, wo er 1997 Projektleiter und 2003 Abteilungsleiter wurde. Er habilitierte sich 2007 in Experimentalphysik an der FU Berlin. Seine Forschungsinteressen umfassen die Erzeugung ultrakurzer optischer Impulse und die Ultrakurzzeitspektroskopie zur Aufklärung von Strukturdynamik in kondensierter Materie.

Thomas Elsaesser (*1957) studierte Physik an der Universität Heidelberg und der Technischen Universität München. 1986 promovierte er an der TU München bei Prof. W. Kaiser über Pikosekunden-Infrarotspektroskopie. Nach einer Assistententätigkeit an der TU München und einem Postdoc-Aufenthalt bei den AT&T Bell Laboratories, Holmdel (USA) habilitierte er sich 1991 an der TU München. Seit 1993 ist er Direktor am Max-Born-Institut und Professor für Experimentalphysik an der Humboldt-Universität zu Berlin. Er hat mit seiner Forschung wichtige Beiträge zur Ultrakurzzeitphysik geleistet, wobei Prozesse in kondensierter Phase das Hauptgebiet darstellen. Wichtige Themen sind transiente Strukturen und elementare mikroskopische Wechselwirkungen in (bio)molekularen Systemen und Festkörpern.

2. Schwingungseigenschaften von Wasser und hydratisierter DNA

2.1. Ultraschnelle Struktur- und Schwingungsdynamik von flüssigem H_2O

In der flüssigen Phase bilden Wassermoleküle ein ausgedehntes ungeordnetes Netzwerk zwischenmolekularer Wasserstoffbrücken.^[17,18] Ein einzelnes Wassermolekül kann über seine Wasserstoffatome als Donor zweier Wasserstoffbrücken fungieren und über sein Sauerstoffatom als Akzeptor von zwei weiteren Brücken (Abbildung 1a). Dieses molekulare Netzwerk unterliegt strukturellen Fluktuationen im Ultrakurzzeitbereich zwischen ca. 10 fs, der Periode der OH-Streckschwingung, und einigen Pikosekunden. Aufgrund der hohen elektrischen Polarität des Wassermoleküls führen strukturelle Fluktuationen zu fluktuierenden langreichweiti-

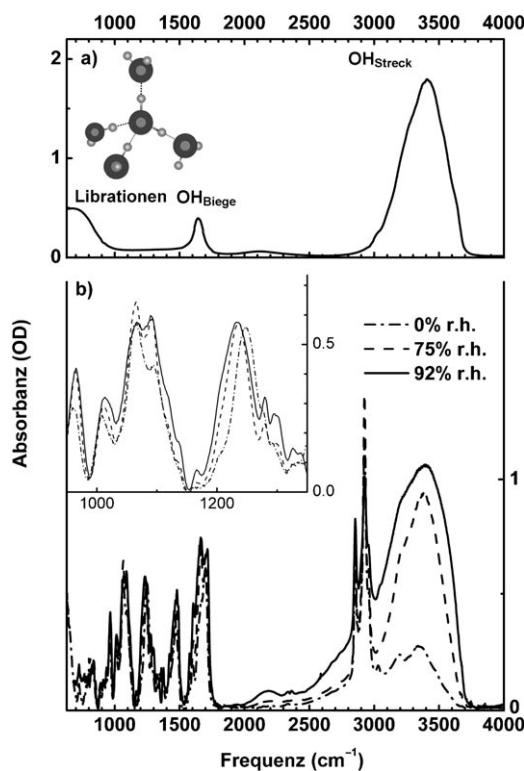


Abbildung 1. a) Infrarot-Absorptionsspektrum von flüssigem Wasser, bestehend aus der OH-Streckbande, der OH-Biegeabsorption und der L2-Librationsbande ($T = 300$ K, Probenbeschichtdicke $3\ \mu\text{m}$). Die Absorption zwischen 1000 und $1600\ \text{cm}^{-1}$ ist auf hochfrequente Librations zurückzuführen, die schwache Bande bei $2100\ \text{cm}^{-1}$ auf einen Librations/OH-Biege-Kombinationston. Kleines Bild: Tetraedrische Anordnung wasserstoffverbrückter Wassermoleküle. b) Infrarot-Absorptionsspektrum von DNA-Oligomeren, die 23 alternierende Adenin-Thymin-Basenpaare enthalten (Struktur in Abbildung 2a,b). Die auf einem Si_3N_4 -Substrat angeordnete Dünnfilmprobe weist Hydrationsgrade von 0%, 75% und 92% relativer Feuchte (r.h.) auf. Die Bande zwischen 3000 und $3700\ \text{cm}^{-1}$ stammt von den NH-Streckschwingungen der Basenpaare und der OH-Streckschwingung des umgebenden Wassers. Einschub: Infrarotsorption im Bereich der symmetrischen ($1070\ \text{cm}^{-1}$) und asymmetrischen ($1250\ \text{cm}^{-1}$) $(\text{PO}_4)^3-$ -Streckschwingung der Phosphatgruppen im DNA-Rückgrat. Beide Banden zeigen charakteristische Veränderungen mit dem Hydratisierungsgrad.

gen Coulomb-Wechselwirkungen. Das Schwingungsabsorptionsspektrum von Wasser im Frequenzbereich zwischen 600 und $4000\ \text{cm}^{-1}$ (Abbildung 1a) wird dominiert durch die fundamentalen Übergänge von $\nu = 0$ nach $\nu = 1$ ($\nu = 0 \rightarrow 1$) der intramolekularen OH-Streck- und Biegeschwingungen und durch so genannte Librationsen, gehinderte Rotationsbewegungen von Wassermolekülen im Netzwerk. Das Maximum der OH-Streckschwingungsbande liegt bei $3400\ \text{cm}^{-1}$, das der OH-Biegeschwingungsabsorption bei $1650\ \text{cm}^{-1}$. Die durch Librationsen verursachte Absorption erstreckt sich über einen breiten Bereich von 400 bis $1600\ \text{cm}^{-1}$, mit der starken L2-Bande um $670\ \text{cm}^{-1}$ und der schwachen OH-Biege/Librations-Kombinationsschwingung bei $2100\ \text{cm}^{-1}$. Die mit Translationsbewegungen verknüpfte Absorption liegt unterhalb von $400\ \text{cm}^{-1}$ und ist, ebenso wie die O···O-Wasserstoffbrückenschwingung bei $170\ \text{cm}^{-1}$, in Abbildung 1a nicht gezeigt.

Die Ultrakurzzeitdynamik von Wasser wurde vorwiegend in Anrege-Abtast- und Photonecho-Experimenten mit einer Zeitauflösung im Femtosekundenbereich untersucht. Diese Methoden werden in Abschnitt 3 im Detail vorgestellt. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass fluktuierende Coulomb-Kräfte zu starker spektraler Diffusion führen, d.h. zu stochastischen Frequenzsprüngen von OH-Streckschwingern.^[30-41] Die Frequenz des $\nu = 0 \rightarrow 1$ -Übergangs eines individuellen OH-Streckschwingers kann dabei über den gesamten Frequenzbereich verändern, über den sich die Absorptionsbande der OH-Streckschwingung erstreckt. Zweidimensionale OH-Streckschwingungsspektren von H_2O zeigen, dass die schnellsten Komponenten der fluktuierenden Kraft im Sub-50-fs-Zeitbereich mit hochfrequenten Librationsbewegungen von Wassermolekülen verknüpft sind.^[40,41] Darüber hinaus treten langsamere Komponenten im (Sub)Pikosekundenbereich auf, die auf Rotationen von Wassermolekülen und das Brechen und Wiederherstellen von Wasserstoffbrücken zurückzuführen sind.^[34] Zwischen benachbarten Wassermolekülen tritt ein resonanter Transfer von OH-Streckschwingungsanregungen im Zeitbereich von 100 fs auf, der ebenfalls zur spektralen Diffusion beiträgt.^[40,41,43] Das beobachtete Verhalten ist in Übereinstimmung mit umfangreichen theoretischen Studien, die auf MD-Simulationen der Wasserdynamik beruhen.^[33-39] Als bestimmende Größe für die Erzeugung der beobachteten Frequenzfluktuationen hat sich die Projektion des fluktuierenden elektrischen Feldes auf die O-H-Bindungskoordinaten der Wassermoleküle erwiesen.

Die Lebensdauer des $\nu = 1$ -Zustandes der OH-Streckschwingung beträgt 200 fs, diejenige des $\nu = 1$ -Zustandes der OH-Biegeschwingung 170 fs.^[40,41,47-50] Zwischen dem $\nu = 1$ -OH-Streck- und dem $\nu = 2$ -OH-Biegezustand besteht eine Fermi-Resonanz. Anrege-Abtast-Experimente im Femtosekundenbereich haben gezeigt, dass die OH-Streckanregung aus dem $\nu = 1$ -Zustand in zwei aufeinanderfolgenden Schritten über die $\nu = 2$ - und $\nu = 1$ -Zustände der OH-Biegeschwingung zerfällt. Die dabei freiwerdende Energie wird auf zwischenmolekulare Schwingungen im Wasserstoffbrückennetzwerk übertragen.^[50] Kürzlich haben theoretische Arbeiten gezeigt, dass OH-Biegeanregungen primär in eine gehinderte Rotation des gleichen Moleküls zerfallen, wobei die

Zentrifugalkopplung der beiden Moden den dominanten Wechselwirkungsmechanismus darstellt.^[51, 52] Hochfrequente Librationen im Frequenzbereich zwischen 1000 und 1600 cm⁻¹ haben eine bisher nicht bestimmte Lebensdauer von weniger als 100 fs. Ihr Zerfall führt zu einer lokalen Schwächung von Wasserstoffbrücken um die angeregten Moleküle, gefolgt von einer langsameren Umverteilung der Überschussenergie im Netzwerk.^[50] Diese Umverteilung ist durch Zeitkonstanten von ca. 1 ps gekennzeichnet und führt zum Brechen von Wasserstoffbrücken. Innerhalb einiger Pikosekunden bildet sich ein makroskopisch aufgeheizter Grundzustand des Netzwerks, in dem im zeitlichen Mittel ein höherer Anteil von Wasserstoffbrücken gebrochen bleibt. Das Brechen von Wasserstoffbrücken ist verknüpft mit einer Rotationsbewegung eines Wassermoleküls um einen großen Winkel von seinem ursprünglichen zu seinem neuen Bindungspartner und wird induziert durch lokale Fluktuationen in der Koordinationszahl der Moleküle.^[42] Derartige Fluktuationen nehmen mit steigender Temperatur zu.

2.2. Schwingungseigenschaften und Hydrathüllen von DNA

Die linearen Infrarot- und Raman-Spektren der DNA und ihre Veränderungen durch Hydratisierung waren Gegenstand umfangreicher experimenteller Arbeiten und theoretischer Berechnungen.^[7–10, 53–58] Schwingungsbanden der DNA decken einen sehr breiten Frequenzbereich ab, von den hochfrequenten Stretcheschwingungen der NH- oder CH-Gruppen zwischen 2800 und 3700 cm⁻¹ bis hinunter zu Anregungen bei <1 cm⁻¹, die mit stark delokalisierten Bewegungen des DNA-Rückgrats verbunden sind. Im Allgemeinen sind die Infrarot- und Raman-Spektren durch eine dichte Folge zahlreicher überlappender Banden gekennzeichnet, vor allem im Fingerprint-Bereich zwischen 1000 und 2000 cm⁻¹. Die Zuweisung der Banden oberhalb von 3000 cm⁻¹ zu den unterschiedlichen NH- und NH₂-Stretcheschwingungen von Basenpaaren wird kontrovers diskutiert, insbesondere im Vergleich zwischen Theorie und Experiment.^[56–58]

In Abbildung 1b präsentieren wir die stationären Infraspektren der DNA-Dünnschichtproben, die in unseren Femtosekundenexperimenten bei verschiedenen Hydratisierungsgraden (relative Feuchte, r.h.) untersucht wurden. Die Proben enthalten DNA-Oligomere mit 23 alternierenden Adenin(A)-Thymin(T)-Basenpaaren (Abbildung 2a,b) und Cetyltrimethylammonium-Gegenionen. Im Frequenzbereich oberhalb 3000 cm⁻¹ zeigt die Probe bei 0 % r.h. (2 Wassermoleküle pro Basenpaar) eine breite Absorption, die eine spektrale Substruktur aufweist.^[59] Eine Erhöhung des Wassergehalts auf 75 % r.h. (12 Wassermoleküle pro Basenpaar) und 92 % r.h. (>20 Wassermoleküle pro Basenpaar) führt zu einer Verstärkung und spektralen Veränderung dieser Absorption, die primär auf die verstärkte OH-Stretcheschwingung bei höherer Wasserkonzentration zurückzuführen ist. Beachtenswert ist, dass die Stärke der Absorption nicht linear mit der Wasserkonzentration skaliert, d.h. die Zunahme der Maximalabsorption (bei 3400 cm⁻¹) von 0 auf 92 % r.h. ist viel kleiner als für das Verhältnis der Wasserkonzentrationen erwartet. Dieses Verhalten zeigt, dass die bei 0 % r.h. beob-

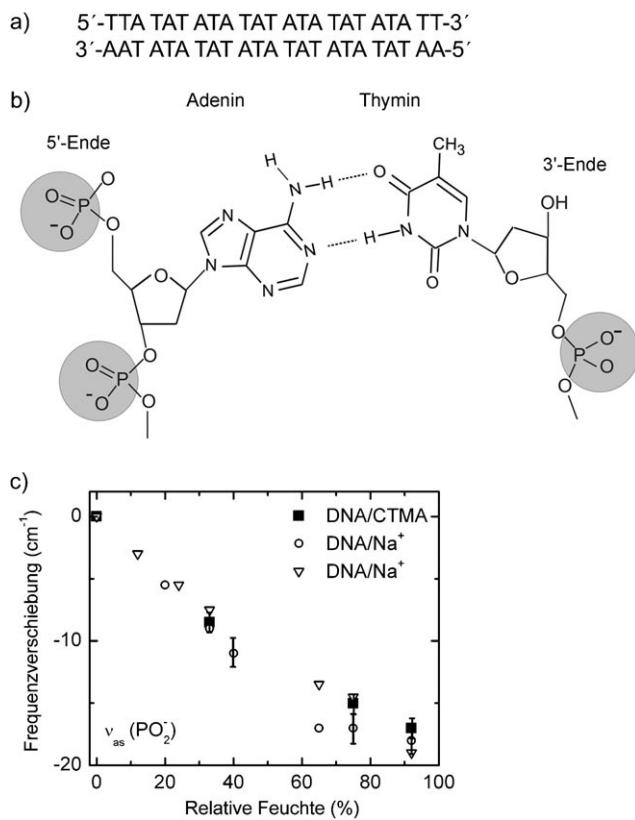


Abbildung 2. a) Sequenz alternierender Adenin(A)-Thymin(T)-Basenpaare in künstlichen Doppelstrang-DNA-Oligomeren. b) Molekülstruktur der A-T-Basenpaare, der Zuckereinheiten und der ionischen Phosphatgruppen im DNA-Rückgrat. Die getönten Flächen um die Phosphatgruppen deuten ihre Wasserhüllen an. c) Frequenzverschiebung der asymmetrischen $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Stretcheschwingung als Funktion der relativen Feuchte (r.h.) in der Probe. Daten für die hier untersuchten DNA-CTMA-Komplexe (Quadrate) werden mit Daten für DNA mit Na⁺-Gegenionen verglichen (Lit. [9, 60]).

achtete Bande nicht vollständig von Wasser herrührt, sondern Beiträge von DNA-Schwingungen enthält.

Der Einschub in Abbildung 1b zeigt Veränderungen der symmetrischen und asymmetrischen (PO₂)⁻-Stretcheschwingungsbanden der Phosphatgruppen im DNA-Rückgrat mit dem Hydratisierungsgrad. Die asymmetrische Stretcheschwingung $\nu_{as}(PO_2)^-$ zeigt eine kontinuierliche Rotverschiebung mit zunehmender Wasserkonzentration, die in Abbildung 2c (Quadrate) gegen die Wasserkonzentration aufgetragen ist. Dieses Verhalten stimmt mit umfangreichen früheren Untersuchungen von DNA mit Na⁺-Gegenionen überein. Diese ergeben aufgrund der unterschiedlichen Polarisierung der Phosphatgruppen durch das Gegenion leicht unterschiedliche absolute Frequenzpositionen der $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Bande, jedoch identische Verschiebungen mit dem Hydratisierungsgrad (offene Symbole).^[9, 60] In den zeitaufgelösten Experimenten werden wir diese Schwingungsmoden als empfindliche Sonde der Hydratisierungsdynamik verwenden.

Ausgehend von derartigen und verwandten Ergebnissen der Infraspektroskopie haben Falk und Mitarbeiter ein (statisches) Hydratisierungsschema von DNA vorgeschlagen, in dem das Na⁺-Gegenion und die Phosphatgruppen die

primär hydratisierten Einheiten darstellen. Hingegen sind Wasserstoffbrücken zu den Zuckergruppen im Rückgrat und zu funktionellen Gruppen der Basenpaare wesentlich schwächer.^[8,9] Die wenigen Wassermoleküle bei 0 % r.h. sollten sich deshalb an den Phosphatgruppen befinden. Außer durch Schwingungsspektroskopie wurde die Hydratisierung von DNA durch Röntgenbeugung, Neutronenstreuung und NMR-Spektroskopie untersucht, jeweils in Verbindung mit theoretischen Arbeiten, vor allem MD-Simulationen. Die Rolle der Phosphatgruppen als primär hydratisierte Einheiten und die Hydratisierungsgeometrien in der großen und kleinen Furche der DNA-Doppelhelix wurden im Detail aufgeklärt. Röntgen- und Neutronenstreuung legen nahe, dass in vollständig hydratisierter DNA sechs Wassermoleküle mit den beiden freien Sauerstoffatomen einer Phosphatgruppe wechselwirken.^[6] Jede Phosphatgruppe ist von ihrer eigenen Wasserhülle umgeben, die von den Wasserhüllen benachbarter Phosphatgruppen getrennt ist und deshalb nur schwach an sie koppelt. In wässriger Umgebung wird diese „erste Lage“ von Wassermolekülen durch Wassermoleküle in größerer Entfernung ergänzt, die über langreichweite Coulomb-Kräfte wechselwirken.^[2,6] Über dieses rein qualitative Konzept einer „zweiten Wasserhülle“ hinaus war eine Unterscheidung der verschiedenen Wasserspezies nicht möglich. Insgesamt beschreiben alle soweit vorgestellten Ergebnisse lediglich das stationäre Verhalten der DNA dicht am thermischen Gleichgewicht.

3. Nichtlineare Femtosekunden-Schwingungsspektroskopie und DNA-Proben

3.1. Nichtlineare Femtosekunden-Schwingungsspektroskopie

Femtosekunden-Infrarotspektroskopie beruht auf der resonanten Wechselwirkung von Femtosekunden-Lichtimpulsen mit Dipolübergängen von Schwingungen.^[25,26,61,62] Im Folgenden beschreiben wir kurz die Anrege-Abtast-Methode und die zweidimensionale Schwingungsspektroskopie, die beide die nichtlineare Antwort 3. Ordnung eines Ensembles molekularer Oszillatoren nutzen. Die resonante Anregung eines Übergangs zwischen zwei Quantenzuständen eines Oszillators durch einen Femtosekundenimpuls (Abbildung 3a) erzeugt sowohl eine kohärente Polarisation, d.h. eine dipolvermittelte Überlagerung der Wellenfunktionen der beiden Zustände, als auch eine Besetzungsänderung durch Anregung von Molekülen vom unteren in den oberen Zustand. Im Anrege-Abtast-Verfahren wird diese Anregung durch einen zweiten Impuls abgetastet, der Änderungen der Schwingungsabsorption als Funktion der Verzögerungszeit zwischen Anregungs- und Abtastimpuls misst. In Abbildung 3a regt ein Pumpimpuls (schwarzer Pfeil, linkes Bild) den $\nu=0\rightarrow 1$ Übergang eines Streckoszillators an, und das System wird über Änderungen der $\nu=0\rightarrow 1$ - und $\nu=1\rightarrow 2$ -Absorption abgetastet (graue Pfeile). Für eine sequenzielle Wechselwirkung, d.h. der Abtastimpuls wechselwirkt mit dem System nach der Anregung, führt die reduzierte Besetzung des $\nu=0$ -Zustandes und die Überschussbesetzung des $\nu=1$ -Zustandes zu einer Absorptionsänderung $\Delta A < 0$ auf

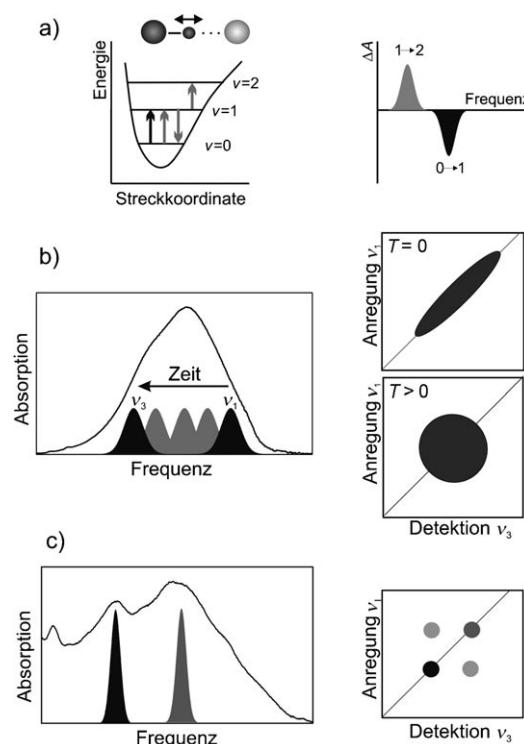


Abbildung 3. a) Links: Schema einer linearen Wasserstoffbrücke mit einer X-H-Donatorgruppe (dunkle Kugeln) und einem Y-Akzeptoratom (helle Kugel) sowie Potential eines anharmonischen Oszillators mit den Quantenzuständen $\nu=0, 1$ und 2 . In einem Femtosekunden-Anrege-Abtast-Experiment wird der $\nu=0\rightarrow 1$ -Übergang durch den Pumpimpuls angeregt (schwarzer Pfeil), und die $\nu=0\rightarrow 1$ - und $\nu=1\rightarrow 2$ -Übergänge werden abgetastet (graue Pfeile). Rechts: Schematische Darstellung der gemessenen Absorptionsänderungen mit einer Abnahme der $\nu=0\rightarrow 1$ -Absorption und einer rotverschobenen Zunahme der $\nu=1\rightarrow 2$ -Absorption. b) Links: Absorptionsbande der OH-Streckschwingung von H_2O und das Prinzip der spektralen Diffusion. Rechte Seite: Schematische Darstellung zweidimensionaler (2D) Spektren für verschiedene Populationszeiten T . c) Links: NH/OH-Streckabsorption der DNA-Oligomere aus Abbildung 2 für 0 % r.h. und deren spektrale Komponenten. Rechte Seite: Schematisches 2D-Spektrum mit Diagonal- und Außendiagonalbeiträgen.

dem $\nu=0\rightarrow 1$ -Übergang, die durch Ausbleichen und gestimulierte Emission verursacht wird (schwarzes Profil im rechten Teil von Abbildung 2a). Gleichzeitig verursacht die $\nu=1$ -Überschussbesetzung eine erhöhte Absorption $\Delta A > 0$ auf dem $\nu=1\rightarrow 2$ -Übergang (graues Profil). Dieser Beitrag zum Signal ist aufgrund der Anharmonizität des Oszillators zu kleineren Frequenzen verschoben. Eine Messung von ΔA als Funktion der Anrege-Abtast-Verzögerung gibt Einblick in die Populationskinetik und die damit verknüpfte Umverteilung von Energie.

In der zweidimensionalen (2D) Infrarotspektroskopie wechselwirkt eine Abfolge von drei Femtosekunden-Infrarotsignalen mit der molekularen Probe und erzeugt eine kohärente Schwingungsantwort, die über ein Photonechosignal ausgelesen wird.^[63–66] Dabei existieren zwei unabhängige Zeitintervalle: zwischen den Impulsen 1 und 2, die Kohärenzzeit, und zwischen den Impulsen 2 und 3, die Warte- oder Populationszeit T . Das Photonechosignal kann in zeitintegrierter Form (Homodyndetektion) oder phasenaufgelöst

durch Mischung mit dem elektrischen Feld eines Referenzimpulses (Impuls 4), des lokalen Oszillators, nachgewiesen werden (Heterodyn-detection). Aus dem Heterodyn-Signal bestimmt man 2D-Spektren, indem die Fourier-Transformierte der Polarisation 3. Ordnung als Funktion zweier Frequenzen bestimmt wird, der Anregungsfrequenz ν_1 und der Detektionsfrequenz ν_3 . Der Realteil dieser Größe ergibt die absorptive Antwort, der Imaginärteil die dispersive Antwort der Probe. (Weitere Details zu dieser Methode finden sich in Lit. [64, 66].)

Abbildung 3b zeigt skizzierte Spektren für den Grenzfall dominanter spektraler Diffusion. In einem ungeordneten Wasserstoffbrückennetzwerk, wie in reinem Wasser, hängt die Frequenz des $\nu_{\text{OH}} = 0 \rightarrow 1$ -Übergangs von der lokalen Umgebung ab, was zu einer – inhomogenen – Frequenzverteilung innerhalb der linearen OH-Streckschwingungsabsorptionsbande führt (linkes Bild). Da die Struktur des Netzwerks, die lokalen Umgebungen und die langreichweiten Coulomb-Wechselwirkungen fluktuieren, verändert sich die Frequenzposition eines Oszillators mit der Zeit. Sie durchläuft statistische Verschiebungen innerhalb der spektralen Einhüllenden, ein Prozess, der als spektrale Diffusion bezeichnet wird. Zeitaufgelöste 2D-Absorptionsspektren (rechts in Abbildung 3b) machen die spektrale Diffusion direkt sichtbar. 2D-Spektren für eine Populationszeit $T = 0$, d.h. ein instantanes Auslesen der von den ersten beiden Impulsen erzeugten Frequenzverteilung angeregter Oszillatoren durch den dritten Impuls, weisen eine entlang der Diagonalen $\nu_1 = \nu_3$ ausgerichtete gestreckte Form auf. Auf der Diagonalen sind Anregungs- und Abtastfrequenz gleich, d.h. jeder bei ν_1 angeregte Oszillator erzeugt einen Signalbeitrag bei der identischen Frequenz ν_3 . Während eines endlichen Zeitintervalls $T \neq 0$ zwischen dem zweiten und dritten („Auslese“)-Impuls tritt im Molekülensemble spektrale Diffusion auf, wodurch die Korrelation zwischen Anregungs- und Detektionsfrequenzen aufgehoben wird. Im Ergebnis zeigt das 2D-Spektrum für $T > 0$ eine im wesentlichen runde Form, welche die Randomisierung der Übergangsfrequenzen und der zugrundeliegenden Molekülgeometrien widerspiegelt.

Im entgegengesetzten Grenzfall vernachlässigbarer spektraler Diffusion gestatten 2D-Spektren die quantitative Bestimmung von Kopplungen zwischen unterschiedlichen Schwingungen. Dies ist in Abbildung 3c am Beispiel der NH/OH-Streckschwingungen von DNA-Oligomeren illustriert. Die lineare Absorptionsbande besteht aus einer Zahl von Linien und hat eine komplexe spektrale Einhüllende. In den nichtlinearen 2D-Spektren treten unterschiedliche Beiträge auf: Die Anregung einer Subkomponente (schwarzes oder graues Profil im linearen Spektrum) führt zu einem Signal bei der gleichen Frequenz, d.h. auf der Diagonalen des 2D-Spektrums (schwarzes oder graues Symbol im rechten Bild) und zusätzlich zu Außendiagonalbeiträgen (hellgraue Symbole) bei der Frequenzposition der jeweils anderen gekoppelten Schwingung. Die Stärke der Außendiagonalbeiträge ist proportional zur Kopplungsstärke.

Die in den Abschnitten 4 und 5 vorgestellten Ergebnisse beruhen auf Zweifarben-Anrege-Abtast-Experimenten in einem weiten Frequenzbereich von 1000 bis 4000 cm^{-1} und auf heterodyn detektierten Photonechos zwischen 3000 und

3700 cm^{-1} . Anrege- und Abtastimpulse, die jeweils im Bereich von 800 bis 3700 cm^{-1} durchstimmbar sind, wurden in zwei parametrischen Frequenzkonvertern erzeugt.^[67] Die Energie der Anregungsimpulse am Ort der Probe war 1.5 μJ , wodurch weniger als 5 % der Oszillatoren in der Probe angeregt wurden. Die zeitliche Breite der Kreuzkorrelation zwischen Anrege- und Abtastimpulsen war 150 fs (FWHM). Die Änderung der Absorbanz der DNA-Filme $\Delta A = -\log(T/T_0)$ (T, T_0 : Transmission der Probe mit und ohne Anregung) wurde als Funktion der Verzögerungszeit zwischen Anrege- und Abtastimpuls mit paralleler (ΔA_{par}) und senkrechter (ΔA_{pp}) linearer Polarization der Impulse gemessen. Aus den Daten wurde die zeitabhängige Anrege-Abtast-Anisotropie $r(t) = (\Delta A_{\text{par}} - \Delta A_{\text{pp}})/(\Delta A_{\text{par}} + 2\Delta A_{\text{pp}})$ errechnet. Nach der Wechselwirkung mit der Probe wurden die Abtastimpulse spektral zerlegt und mit einer HgCdTe-Detektorzeile mit 16 Elementen nachgewiesen (spektrale Auflösung 2 cm^{-1} um 1200 cm^{-1} und 8 cm^{-1} zwischen 3000 und 3700 cm^{-1}).

In den Photonechoexperimenten wurden mithilfe diffraktiver Optik zwei phasengekoppelte Impulspaare mit den Ausbreitungsrichtungen $(\mathbf{k}_1, \mathbf{k}_2)$ und $(\mathbf{k}_3, \mathbf{k}_{10})$ erzeugt, die in der „Boxcar“-Geometrie mit der Probe wechselwirken.^[40, 41] 2D-Spektren wurden aus dem heterodyn detektierten Signal in der $(\mathbf{k}_1 - \mathbf{k}_2 + \mathbf{k}_3)$ -Richtung bestimmt, wobei das in Lit. [40, 41] beschriebene Verfahren eingesetzt wurde. Im Allgemeinen führt die elastische Streuung des Infrarotlichts an den DNA-Filmen zu einem Hintergrundsignal bei der Detektion des Photonechosignals. Für DNA-Filme auf CaF_2 -Substraten ist dieses Signal hinreichend klein, um Photonechos homodyn und heterodyn detektieren zu können.

3.2. Präparation der DNA-Dünffilmproben

In den Ultrakurzzeitexperimenten wurden DNA-Oligomer-Doppelstränge untersucht, die 23 alternierende Adenin(A)-Thymin(T)-Basenpaare enthalten. Die Doppelstränge bestehen aus einem 5'-T(TA)₁₀-TT-3'-Strang und einem komplementären Strang (Abbildung 2a,b). Um DNA-Filme hoher optischer Qualität herzustellen, wurden die Na^+ -Genionen durch das Tensid Cetyltrimethylammonium (CTMA) ersetzt, das Komplexe mit DNA bildet. DNA-Dünffilmproben mit 5–30 μm Dicke wurden mit dem in Lit. [68–71] beschriebenen Verfahren präpariert. Die Komplexe wurden auf 0.5 μm dicke Si_3N_4 - oder 1 mm dicke CaF_2 -Substrate aufgebracht. Aus der Größe der DNA-Tensid-Komplexe lässt sich eine DNA-Konzentration von $1.5 \times 10^{-2} \text{ M}$ abschätzen. Die DNA-Proben wurden in eine selbstentwickelte Feuchtigkeitskammer eingebracht. Diese Kammer war mit einem Reservoir verbunden, das unterschiedliche Substanzen zur Einstellung der relativen Feuchte (r.h.) in der Kammer und damit im DNA-Film enthielt. Die Wasserkonzentration im Film betrug 0.57 M, 3.5 M und 5.7 M für relative Feuchten von 0 %, 75 % bzw. 92 %. Der Hydratisierungsgrad der DNA-Filme wurde durch stationäre Messungen der ν_{as}^- - $(\text{PO}_2)^-$ -Infrarotabsorption bei den verschiedenen Feuchtegraden (Abbildung 2c) und durch gravimetrische Messungen verifiziert.

Röntgenbeugungsexperimente zeigen, dass mit Tensid-Gegenionen versehene DNA-Helices Konformationsänderungen durchlaufen, die vom Wassergehalt abhängig und sehr ähnlich zu denen von DNA-Oligomeren mit Na^+ -Gegenionen sind.^[68–70] DNA-Oligomere mit alternierenden A-T-Paaren liegen zwischen 40 und 70 % r.h. in der D-Konformation^[2] vor und bei höheren Feuchtegraden in der B-Konformation.^[2] Röntgenbeugungsuntersuchungen ergeben auch bei 0 % r.h. eine definierte Helixstruktur.

4. Ultraschnelle Schwingungsdynamik und Schwingungskopplungen in hydratisierter DNA

4.1. NH- und NH_2 -Streckschwingungen in DNA-Basenpaaren

Spektral und zeitaufgelöste Anrege-Abtast-Experimente bei verschiedenen Hydratisierungsgraden gestatten die Zuordnung der NH- und NH_2 -Streckschwingungsbanden von Thymin und Adenin und ihre Unterscheidung von der OH-Streckabsorption des umgebenden Wassers.^[59, 71] Abbildung 4 zeigt nichtlineare Absorptionsspektren für verschiedene Verzögerungszeiten nach Anregung durch Impulse, die bei $E_{\text{ex}} = 3250 \text{ cm}^{-1}$ spektral zentriert sind. Für 0 % r.h. (Abbildung 4a) beobachtet man eine breite Absorption unterhalb von 3100 cm^{-1} , die auf die $\nu = 1 \rightarrow 2$ -Übergänge der angeregten Oszillatoren zurückzuführen ist. Die beiden ausgeprägten negativen Banden mit Maxima bei 3200 und 3350 cm^{-1} röhren vom Ausbleichen und der stimulierten Emission auf den $\nu =$

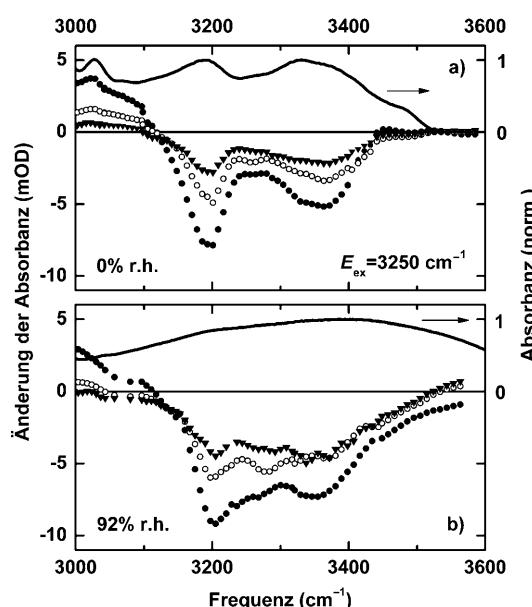


Abbildung 4. a) Transiente Anrege-Abtast-Spektren (Symbole) der DNA-Oligomere bei 0 % r.h. nach Anregung durch Femtosekundenimpulse mit Maximum bei $E_{\text{ex}} = 3250 \text{ cm}^{-1}$. Die Änderung der Absorbanz $\Delta A = -\log(T/T_0)$ (T, T_0 : Transmission der Probe mit und ohne Anregung, parallele lineare Polarisation von Anrege- und Abtastimpuls) in mOD ist aufgetragen als Funktion der Abtastfrequenz für Verzögerungszeiten von 100 fs (volle Kreise), 500 fs (offene Kreise) und 1 ps (Dreiecke). Die durchgezogene Linie zeigt das lineare Absorptionspektrum. b) Entsprechende Daten für DNA-Oligomere bei 92 % r.h.

$0 \rightarrow 1$ -Übergängen her. Die Amplituden dieser Banden nehmen auf einer Zeitskala von 1 ps deutlich ab, ohne ihre spektrale Position zu verändern. Dies zeigt eine vernachlässigbare spektrale Diffusion dieser Banden. Die zeitliche Entwicklung der Absorptionserhöhung ($\nu = 1 \rightarrow 2$ -Übergang) und der Absorptionsabnahme ($\nu = 0 \rightarrow 1$ -Übergang) ist in Abbildung 5a,b für zwei feste spektrale Positionen aufgetra-

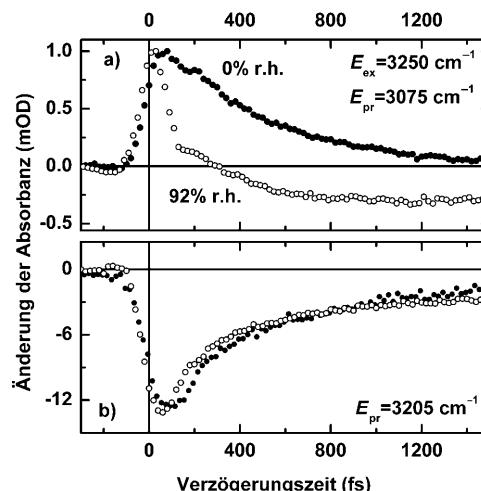


Abbildung 5. a) Änderung der Absorbanz ΔA bei einer Abtastphoton-Energie $E_{\text{pr}} = 3075 \text{ cm}^{-1}$ nach Anregung der DNA-Oligomere bei $E_{\text{ex}} = 3250 \text{ cm}^{-1}$ als Funktion der Anrege-Abtast-Verzögerungszeit. Daten sind gezeigt für 0 % r.h. (volle Kreise) und 92 % r.h. (offene Kreise, parallele Polarisation von Anrege- und Abtastimpulsen). b) Entsprechende Daten für eine Abtastphoton-Energie $E_{\text{pr}} = 3205 \text{ cm}^{-1}$.

gen (volle Symbole). Man beobachtet eine anfängliche Relaxation mit der Lebensdauer des angeregten $\nu = 1$ -Zustandes von ungefähr 500 fs. Raman-Experimente im Subpikosekundenbereich haben gezeigt, dass die NH-Streckschwingungen vorwiegend in Fingerprint-Schwingungen im Frequenzbereich der NH-Biegeschwingungen zerfallen.^[72] Nach der 500-fs-Kinetik tritt in der Absorptionsabnahme (Abbildung 5b) eine langsame Komponente auf, die mit der Dissipation von Überschussenergie zusammenhängt und in Abschnitt 5 diskutiert wird.

Die transienten Spektren der vollständig hydratisierten Probe (92 % r.h.) sind in Abbildung 4b gezeigt. Hier werden die beiden starken negativen Banden bei 3200 und 3350 cm^{-1} durch die breite OH-Streckabsorption des zusätzlichen Wassers ergänzt, die zwischen den beiden Banden und oberhalb von 3400 cm^{-1} am stärksten ausgeprägt ist. Aus den in Abbildung 5a,b gezeigten Zeitabhängigkeiten (offene Kreise) ergibt sich ein gegenüber 0 % r.h. verändertes Verhalten mit einem schnellen Abfall der Absorptionserhöhung bei 3075 cm^{-1} (Abbildung 5a) und einer nachfolgenden langsameren Komponente, die zu späteren Zeiten negative Werte annimmt.

Eine detaillierte Analyse der beiden transienten Banden bei 3200 und 3350 cm^{-1} , die Messungen der transienten Anrege-Abtast-Anisotropien umfasst und Schwingungszuordnungen für isolierte Basenpaare in der Gasphase einbezieht, wurde in Lit. [59, 71] präsentiert. Die Bande bei

3200 cm⁻¹ ist eine Überlagerung der NH-Streckschwingungsbande von Thymin und der symmetrischen NH₂-Streckschwingungsbande von Adenin. Diese beiden Moden weisen eine gegenseitige Kopplung in der Größenordnung von 15 cm⁻¹ auf, die aus einem schnellen Abfall der Anrege-Abtast-Anisotropie bestimmt wurde.^[71] Im Vergleich zu dieser Kopplung ist die Kopplung an die asymmetrische NH₂-Streckschwingung geringer. Kopplungen zwischen Oszillatoren verschiedener Basenpaare sollten noch schwächer sein und wurden nicht beobachtet.

Die bisher vorgestellten Femtosekundenmessungen gestatten eine Bestimmung der unterschiedlichen NH-Streckschwingungsbanden und ihrer gegenseitigen Kopplungen. Diese Ergebnisse für unterschiedliche Hydratisierungsgrade beweisen, dass NH-Streckschwingungsbanden einen wesentlichen Beitrag zur Gesamt-Schwingungsabsorption im Frequenzbereich von 3000 bis 3700 cm⁻¹ liefern.

4.2. OH-Streckschwingungsdynamik von Wasser in Wechselwirkung mit DNA

Die OH-Streckschwingung von Wasser ist eine empfindliche Sonde für Struktur und Dynamik lokaler Wasserstoffbrücken und langreichweiterer Coulomb-Wechselwirkungen. Die OH-Streckabsorption tritt im gleichen Spektralbereich auf wie die NH-Streckschwingungsbanden der DNA-Basenpaare. In Abbildung 6 sind transiente Infrarotspektren nach Anregung durch Impulse bei $E_{\text{ex}} = 3550 \text{ cm}^{-1}$ gezeigt. Bei 0 % r.h. (Abbildung 6a) führen die ca. 2 Wassermoleküle pro Basenpaar zu einer schwachen OH-Streckschwingungsbande

mit einem Maximum bei 3480 cm⁻¹. Diese Bande weist eine vernachlässigbare spektrale Diffusion auf und zerfällt auf einer Zeitskala weniger Pikosekunden. Die $v=1$ -Lebensdauer der OH-Streckschwingung beträgt ca. 500 fs und ist damit deutlich länger als in reinem Wasser (200 fs, siehe Abschnitt 2.1). Die Anrege-Abtast-Anisotropie hat im DNA-Wasser-System bei 0 % r.h. einen konstanten Wert von 0.4 und unterscheidet sich somit stark vom 100-fs-Zerfall in reinem H₂O. Diese Ergebnisse legen eine Hydratisierungsgeometrie nahe, in der einzelne Wassermoleküle an den Phosphatgruppen platziert sind, den stärksten Wasserstoffbrücken-Akzeptoren in den DNA-Proben. Die spektrale Position der OH-Bande und die im Vergleich zu reinem Wasser verlängerte Lebensdauer ähneln dem Verhalten von Wasser in kleinen Micellen, in denen Wassermoleküle direkt mit den stark polaren oder ionischen Kopfgruppen der Mische wechselwirken.^[73,74] Im Fall von Wasser und DNA führt die starke lokale Wechselwirkung zu einer Geometrie, in der die Wassermoleküle an den Phosphatgruppen sterisch fixiert sind und damit Rotationsbewegungen unterdrückt werden. Daraus resultiert eine zeitlich konstante Anrege-Abtast-Anisotropie.

Bei 92 % r.h. sind mehr als 20 Wassermoleküle pro Basenpaar vorhanden, weshalb eine heterogene Struktur des Wassers zu erwarten ist. Neben den direkt mit der DNA wechselwirkenden Wassermolekülen sollte eine äußere Wasserhülle existieren, in der Wechselwirkungen zwischen Wassermolekülen dominieren und deren Eigenschaften denjenigen des reinen Wassers ähneln. Die Anrege-Abtast-Daten in den Abbildungen 4 und 6 zeigen in der Tat, dass unterschiedliche Wasserspezies auftreten. Die transiente OH-Streckschwingungsbande (Abbildung 4b und 6b) erstreckt sich jetzt über einen sehr viel breiteren Spektralbereich von ca. 3200 bis 3600 cm⁻¹. Nach Anregung bei $E_{\text{ex}} = 3550 \text{ cm}^{-1}$ tritt ausgeprägte spektrale Diffusion auf, die zu einer Verschiebung des Schwerpunkts der Bande zu kleineren Frequenzen führt (Abbildung 6b).

Zeitaufgelöste Transienten für 92 % r.h. sind in Abbildung 7a gezeigt. Die Abnahme des OH-Streckabsorption nach Anregung bei $E_{\text{ex}} = 3500 \text{ cm}^{-1}$ weist eine anfängliche Relaxation mit einer Zeitkonstante von 200 fs auf, die mit dem schnellen Abfall der $v=1 \rightarrow 2$ -Absorption in Abbildung 5a übereinstimmt und nahezu identisch ist mit der $v=1$ -Lebensdauer in reinem Wasser. Neben dieser schnellen Komponente tritt ein langsamerer Beitrag mit einer Zeitkonstante von ca. 500 fs auf und danach eine langlebige Komponente, die sich über Hunderte von Pikosekunden nicht verändert. Wir vergleichen nun dieses Verhalten mit den nach Anregung bei $E_{\text{ex}} = 3250 \text{ cm}^{-1}$ gemessenen Daten (Rauten in Abbildung 7). Hier tritt wieder die 200-fs-Komponente auf, danach aber die Bildung einer langlebigen transienten Absorption mit einer Zeitkonstante von 500 fs. Dieses Verhalten ähnelt stark dem des reinen Wassers, das für die gleichen Anrege- und Abtastfrequenzen bestimmt wurde (durchgezogene Linie, Lit. [47]). Die erhöhte Absorption ist auf die Bildung eines Wassergrundzustandes mit heißem Schwingungssystem zurückzuführen. Die Überschussenergie aus dem Zerfall der OH-Streckanregung wird an zwischenmolekulare Moden niedriger Frequenz übertragen und über das

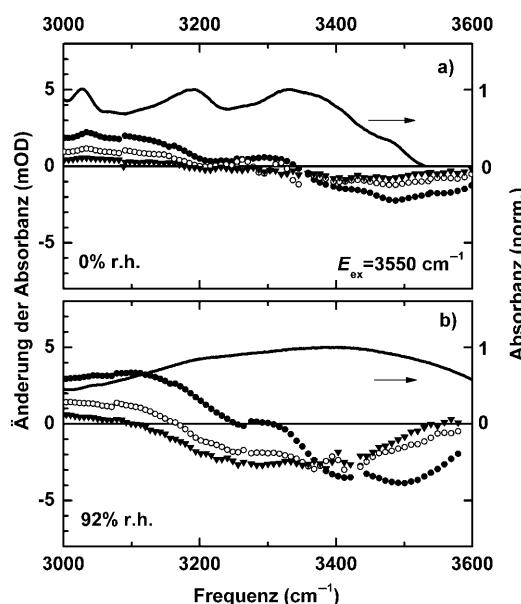


Abbildung 6. a) Transiente Anrege-Abtast-Spektren von DNA-Oligomeren bei 0 % r.h. nach Anregung durch Femtosekundenimpulse mit Maximum bei $E_{\text{ex}} = 3550 \text{ cm}^{-1}$. Die Änderung der Absorbanz ΔA in mOD ist aufgetragen als Funktion der Abtastfrequenz für Verzögerungszeiten von 100 fs (volle Kreise), 500 fs (offene Kreise) und 1 ps (Dreiecke). Die durchgezogene Linie zeigt das lineare Absorptionspektrum. b) Entsprechende Daten für DNA-Oligomere bei 92 % r.h.

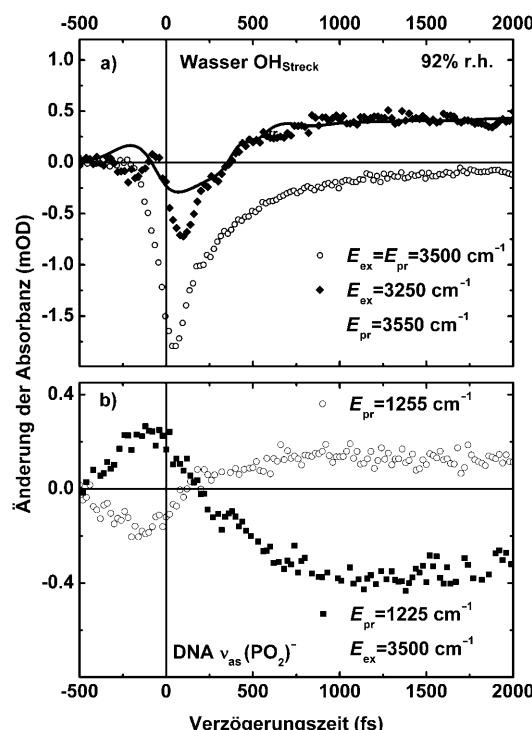


Abbildung 7. a) Zeitauflöste Änderung der OH-Streckabsorption von Wasser in der DNA-Probe bei 92 % r.h. (parallele Polarisation von Anrege- und Abtastimpuls). Die Daten für $E_{\text{ex}} = E_{\text{pr}} = 3500 \text{ cm}^{-1}$ zeigen einen anfänglichen 200-fs-Zerfall, gefolgt von einem langsameren 500-fs-Beitrag und einem langlebigen Restsignal. Nach Anregung bei $E_{\text{ex}} = 3250 \text{ cm}^{-1}$ beobachtet man zu frühen Zeiten eine Absorptionsabnahme, die mit ca. 200 fs zerfällt, gefolgt von einer Absorptionszunahme mit einer Zeitkonstante von 500 fs. Letzteres Signal wird durch die Bildung eines heißen Grundzustands des Wassers verursacht, ähnlich zu reinem Wasser (durchgezogene Linie, Daten aus Lit. [47]). b) Zeitliche Entwicklung der Änderung der $v_{\text{as}}(\text{PO}_4^{2-})$ -Absorption der DNA bei zwei festen Frequenzpositionen E_{pr} (siehe Abbildung 11) nach Anregung der OH-Streckschwingung des umgebenden Wassers ($E_{\text{ex}} = 3500 \text{ cm}^{-1}$).

Wasserstoffbrücken-Netzwerk delokalisiert. Unter unseren experimentellen Bedingungen führt dies zu einem Anstieg der Schwingungstemperatur um 3–5 K. Im aufgeheizten Wassernetzwerk ist der Anteil gebrochener Wasserstoffbrücken erhöht, d.h. ein größerer Bruchteil von OH-Gruppen ist nicht (mehr) Bestandteil einer Wasserstoffbrücke. Die Absorption solcher OH-Gruppen tritt im hochfrequenten Teil der OH-Streckschwingungsbande auf und verursacht so den Absorptionsanstieg.

Zweidimensionale (2D) Schwingungsspektren geben wesentlich genaueren Einblick in die Zeitskalen und die Mechanismen spektraler Diffusion. Wie in Abbildung 3b schematisch gezeigt, weist ein inhomogen verbreitetes Ensemble von Oszillatoren anfänglich eine Korrelation zwischen Anregungs- und Detektionsfrequenzen auf, die zu einem entlang der Diagonalen $\nu_1 = \nu_3$ ausgerichteten 2D-Spektrum führt. Spektrale Diffusion hebt diese Korrelation auf, und das 2D-Spektrum geht in eine im Wesentlichen runde Form über. In Abbildung 8 sind 2D-Spektren für reines Wasser (linke Spalte) und für hydratisierte DNA bei 92 % r.h. (rechte Spalte)

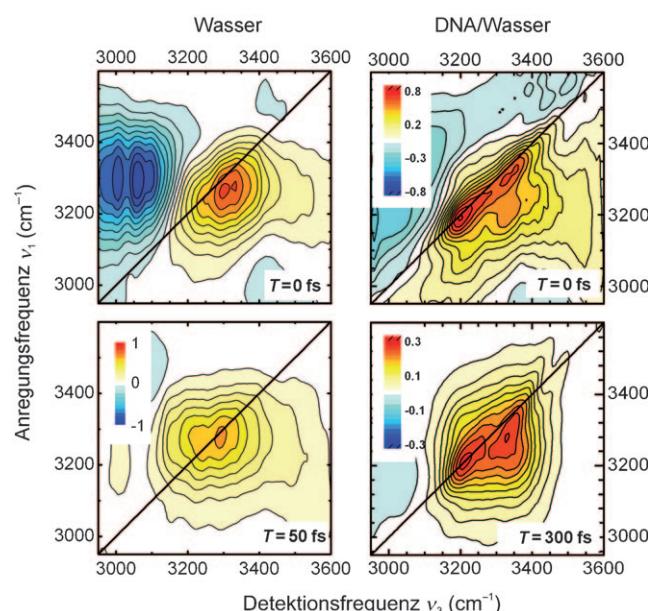


Abbildung 8. Zweidimensionale Schwingungsspektren von reinem Wasser (linke Spalte, aus Lit. [40]) und von hydratisierter DNA bei 92 % r.h. (rechte Spalte). Der Realteil des 2D-Signals ist aufgetragen gegen die Anregungs frequenz ν_1 und die Detektionsfrequenz ν_3 für verschiedene Populationszeiten (Wartezeiten) T . Die Signale werden in den gelb-roten Bereichen durch die $\nu = 0 \rightarrow 1$ -Übergänge verursacht, in den blauen Bereichen durch die $\nu = 1 \rightarrow 2$ -Übergänge.

Spalte) für verschiedene Populationszeiten (Wartezeiten) T gezeigt. Im Bereich des $\nu = 0 \rightarrow 1$ -Übergangs (gelb-rote Bereiche) gehen die Spektren des reinen Wassers von einer leicht gestreckten Form bei $T = 0$ innerhalb von 50 fs in eine runde Form über. Diese extrem schnelle spektrale Diffusion wurde in Lit. [40, 41] eingehend diskutiert und ist auf die durch hochfrequente Librationen verursachten fluktuierenden Felder zurückzuführen. Die 2D-Spektren des DNA-Wasser-Systems (rechte Spalte) enthalten ausgeprägte Signale auf den Diagonalen, die aus Beiträgen der NH-Streckschwingungen und der OH-Streckschwingung des Wassers bestehen. Das Kreuzsignal bei der Frequenzposition $(\nu_3, \nu_1) = (3330 \text{ cm}^{-1}, 3200 \text{ cm}^{-1})$ ist auf die Kopplung zwischen den NH-Streckschwingungen bei 3200 cm^{-1} und der asymmetrischen NH_2 -Streckschwingung bei 3330 cm^{-1} zurückzuführen. Das entsprechende Kreuzsignal bei $(3200 \text{ cm}^{-1}, 3330 \text{ cm}^{-1})$ ist durch das starke Signal der $\nu = 1 \rightarrow 2$ -Übergänge (mit entgegengesetztem Vorzeichen) verdeckt. Für $T = 300$ fs sind die NH-Streckschwingungsbeiträge noch immer an ihrer ursprünglichen Position, d.h. sie zeigen vernachlässigbare spektrale Diffusion, während der OH-Streckbeitrag seine Form stark verändert hat und jetzt eine im wesentlichen runde Einhüllende zeigt. Dieses Verhalten ist qualitativ sehr ähnlich zu reinem Wasser, jedoch etwas langsamer. Eine detailliertere Analyse der Spektren und der grundlegenden Kopplungen wird an anderer Stelle diskutiert werden.

4.3. Phosphatschwingungen im DNA-Rückgrat

Die ionischen Phosphatgruppen spielen eine wichtige Rolle bei der Hydratisierung von DNA, und ihre Schwingungen sind empfindliche Sonden der DNA-Wasser-Wechselwirkung. Wie in den Abbildungen 1b (Einschub) und 2c gezeigt, durchläuft die asymmetrische $(\text{PO}_2)^-$ -Streckschwingung mit wachsendem Hydratisierungsgrad eine charakteristische Verschiebung zu kleineren Frequenzen. Im Folgenden diskutieren wir die erste Untersuchung dieser Schwingung im Femtosekundenbereich.

Transiente Spektren der $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)^-$ -Absorption wurden bei 0 % und 92 % r.h. nach resonanter Anregung durch Impulse mit einer Dauer von 130 fs gemessen, die spektral bei $E_{\text{ex}} = 1230 \text{ cm}^{-1}$ zentriert waren. Die Spektren für 0 % r.h. (Abbildung 9) zeigen eine erhöhte rotverschobene Absorption auf

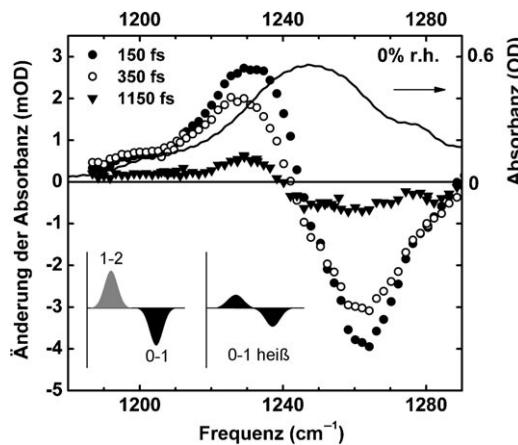


Abbildung 9. Transiente Spektren der asymmetrischen $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)^-$ -Schwingung (Symbole) der DNA-Oligomere bei 0 % r.h. nach Femtosekundenanregung durch Impulse mit Maximum bei $E_{\text{ex}} = 1230 \text{ cm}^{-1}$. Die Änderung der Absorbanz ist gegen die Abtastfrequenz aufgetragen für verschiedene Verzögerungszeiten (parallele Polarisation von Anrege- und Abtastimpulsen). Die Spektren zeigen eine erhöhte $\nu = 1 \rightarrow 2$ -Absorption bei niedrigen Frequenzen und eine reduzierte $\nu = 0 \rightarrow 1$ -Absorption bei hohen Frequenzen (linker Einschub). Der rechte Einschub zeigt ein Schema der $\nu = 0 \rightarrow 1$ -Absorption nach der Relaxation des $\nu = 1$ -Zustandes. Durchgezogene Linie: lineare Infrarotabsorption.

dem $\nu = 1 \rightarrow 2$ -Übergang und eine Absorptionsabnahme auf dem fundamentalen Übergang ($\nu = 0 \rightarrow 1$) des Oszillators. Beide Komponenten relaxieren als Funktion der Zeit mit nur geringen Änderungen der spektralen Einhüllenden. Die Rotverschiebung der erhöhten $\nu = 1 \rightarrow 2$ -Absorption relativ zur Abnahme der $\nu = 0 \rightarrow 1$ -Absorption ist ein Maß für die (diagonale) Anharmonizität $\Delta\nu$ des $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)^-$ -Oszillators. Eine Linienformanalyse ergibt Werte von $\Delta\nu = \nu_{21} - \nu_{10} = -(12 \pm 2) \text{ cm}^{-1}$ für 0 % r.h. und $\Delta\nu = -(18 \pm 2) \text{ cm}^{-1}$ für 92 % r.h. Sowohl die Rotverschiebung wie auch die Zunahme der Anharmonizität des $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)^-$ -Oszillators mit dem relativen Feuchtegrad sind auf die zunehmende Hydratisierung der Phosphatgruppen zurückzuführen. Neben der größeren Zahl von Wasserstoffbrücken zwischen den $(\text{PO}_2)^-$ -Gruppen und Wassermolekülen ist dabei die Verschiebung elektronischer

Ladung in den stark polarisierbaren $(\text{PO}_2)^-$ -Gruppen von Bedeutung.^[75]

Bei beiden Feuchtegraden zerfallen die erhöhte $\nu = 1 \rightarrow 2$ -Absorption und die verminderte $\nu = 0 \rightarrow 1$ -Absorption mit der sehr kurzen Lebensdauer des $\nu = 1$ -Zustands von 340 fs (Abbildung 10, durchgezogene Linie: numerische Anpassung). Die identische Lebensdauer bei 0 % und 92 % r.h.

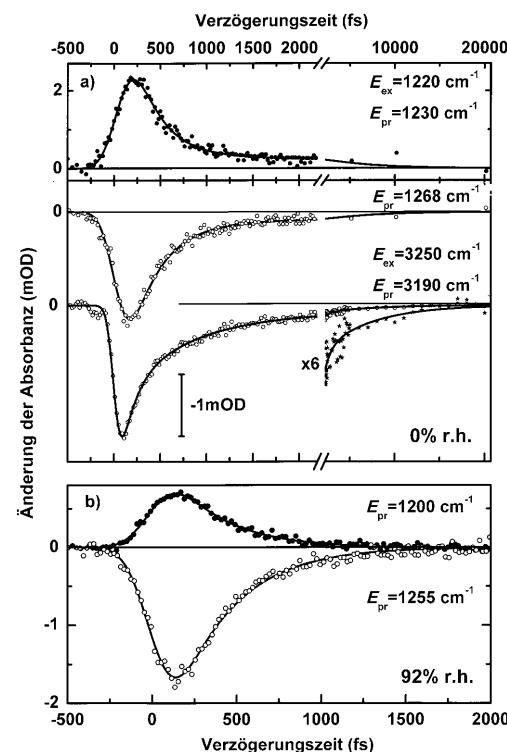


Abbildung 10. Zeitaufgelöste Änderungen der $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)^-$ -Absorption bei festen Abtastfrequenzen für DNA-Oligomere bei a) 0 % r.h. und b) 92 % r.h. (Symbole, parallele Polarisation von Anrege- und Abtastimpulsen). Der 340-fs-Zerfall zu frühen Zeiten ist unabhängig vom Hydratisierungsgrad (durchgezogene Linien: aus einem Ratengleichungsmodell berechnete Kurven) und zeigt die $\nu = 1$ -Populationsrelaxation. Bei 0 % r.h. folgt auf diese Komponente ein langsames Restsignal. Dieser Beitrag wird auch in der Kinetik der NH-Streckschwingungen beobachtet (unterste Transiente in (a)) und zerfällt mit einer Zeitkonstante von 5.5 ps (durchgezogene Linie). Bei 92 % r.h. (b) tritt kein langsames Signal auf.

deutet auf eine vernachlässigbare Rolle von Wasserschwingungen für den Zerfall der $\nu = 1$ -Besetzung hin. Hingegen sollte die Kopplung an DNA-Schwingungen niedrigerer Frequenz, z. B. die symmetrische $(\text{PO}_2)^-$ -Streckschwingung, die Diesterphosphat-Streckschwingung und die Phosphat-Biegeschwingungen, den Relaxationspfad beeinflussen. Nach dem $\nu = 1$ -Zerfall wird eine kleine langlebige Absorptionsänderung beobachtet, die innerhalb von 20 ps vollständig zerfällt. Diese Komponente ist auch in der Relaxationskinetik der NH-Streckschwingungen vorhanden (unterste Transiente in Abbildung 10a) und zeigt die Dissipation von Überschussenergie (siehe Abschnitt 5). Es ist von großer Bedeutung, dass diese langsame Komponente bei vollständig hydratisierten Phosphatgruppen (92 % r.h.) nicht auftritt.

5. Energiedissipation im Nichtgleichgewicht und Hydratisierungsdynamik

In diesem Abschnitt wird die Umverteilung von Überschussenergie nach Schwingungsanregung der DNA und nach Anregung der Wasserhülle über ihre OH-Streckschwingungen behandelt. Bei 0 % r.h. zeigen die $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Mode und die NH-Streckschwingungen bei 3190 cm^{-1} (Abbildung 10a) nach dem Zerfall des jeweiligen $\nu=1$ -Zustandes eine nachfolgende langsam veränderliche Absorptionsänderung, die innerhalb von 20 ps zerfällt. Dieses Signal wird durch eine spektrale Verformung der jeweiligen Schwingungsbanden im heißen Grundzustand des Molekülensembles verursacht. Die im $\nu=1$ -Zerfall freiwerdende Überschussenergie führt zu transienden Nichtgleichgewichtsbesetzungen niederfrequenter Moden. Eine Untergruppe dieser Moden koppelt anharmonisch an die $\nu_{as}(PO_2)^-$ - und/oder die NH-Streckschwingungen, die sich jetzt in ihren $\nu=0$ -Zuständen befinden. Diese Kopplung verursacht eine spektrale Verformung der $\nu_{as}(PO_2)^-$ und/oder der NH-Streckabsorption ($\nu=0\rightarrow 1$ -Übergang) und damit die Absorptionsänderung im Pikosekundenbereich.^[76] Das Abkühlen der niederfrequenten Moden durch Energietransfer in das große Schwingungssystem der DNA wird als langsamer Zerfall dieses „thermischen“ Signals sichtbar. Die bei 0 % r.h. vorhandenen wenigen Wassermoleküle befinden sich zwar an den Phosphatgruppen, die von ihnen bereitgestellte Zahl an Energie aufnehmenden Moden ist aber sehr gering. Deshalb dient unter diesen Bedingungen die DNA selbst als primäre Wärmesenke, und die Pikosekundenkinetik gibt Aufschluss über den Energietransport innerhalb von und entlang der DNA-Struktur. Eine sehr ähnliche Zeitskala wurde in jüngsten Untersuchungen des Energietransports in Peptidstrukturen^[77] und in längeren Kohlenwasserstoffen^[78] gefunden.

In der Dynamik der vollständig hydratisierten DNA bei 92 % r.h. tritt die langsame Komponente in der $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Relaxation nicht auf. Offensichtlich dient hier die Wasserhülle um einen angeregten $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Oszillator als sehr effiziente Wärmesenke. Das Fehlen jeglicher langsamen Kinetik zeigt, dass der Energietransfer aus der DNA in die Wasserhülle in einem kürzeren Zeitraum erfolgt als die Lebensdauer des $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Zustandes von 340 fs. Der Energiefluss in die Wasserhülle wird durch niederfrequente Moden vermittelt. Obwohl die Zahl niederfrequenter Moden in einer Hülle aus 6 Wassermolekülen geringer ist als im reinen Wasser, existiert ein breiter Bereich von Librationsanregungen, welche die Energie aufnehmen können. Insgesamt etablieren diese Ergebnisse die Bedeutung der wässrigen Umgebung als Wärmesenke für Überschussenergie, die aus dem Zerfall von Vibrations- aber auch vibronischen Anregungen der DNA stammt.

Um die Wechselwirkung zwischen den Phosphatgruppen und ihren Wasserhüllen genauer zu verstehen, wurde eine Reihe von Experimenten durchgeführt, in denen die Wasserhülle bei 92 % r.h. über die OH-Streckschwingung angeregt wurde und die Reaktion der $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Schwingung spektral und zeitlich aufgelöst verfolgt wurde. In Abbildung 11 sind transiente $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Spektren für verschiedene Verzögerungszeiten nach Anregung der OH-Streckschwingung

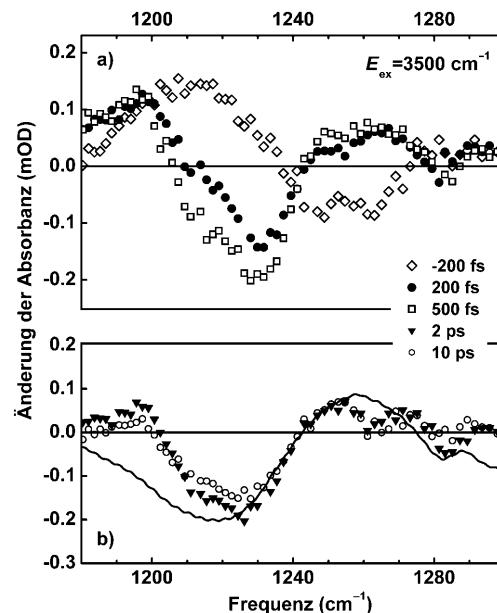


Abbildung 11. a) Transiente Spektren (Symbole) der $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Schwingung nach Anregung ($E_{ex}=3500\text{ cm}^{-1}$) der OH-Streckschwingung von Wassermolekülen in der DNA-Probe bei 92 % r.h. Es sind Spektren für drei verschiedene Anrege-Abtast-Verzögerungszeiten gezeigt (parallele Polarisation von Anrege- und Abtastimpulsen). b) Transiente Spektren für Verzögerungszeiten von 2 und 10 ps (Symbole). Durchgezogene Linie: Differenz $\delta A = A(0\%) - A(92\%)$ der linearen Absorptionsspektren für 0 % und 92 % r.h., skaliert für den Bruchteil angeregter Wassermoleküle.

gung bei $E_{ex}=3500\text{ cm}^{-1}$ gezeigt. Das Spektrum für -200 fs (Abtastimpuls geht Anregeimpuls voraus) ist durch die Kopplung zwischen den OH-Streck- und den $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Oszillatoren bestimmt. Bei positiven Verzögerungszeiten (Abtastimpuls nach Anregeimpuls) verändert sich die Form der Spektren stark. Es bilden sich eine ausgeprägte Absorptionsabnahme bei niedrigen Frequenzen und eine erhöhte Absorption bei hohen Frequenzen aus, die beide für Verzögerungszeiten über 10 ps erhalten bleiben. Abbildung 7b enthält die zeitabhängigen Absorptionsänderungen für zwei feste Abtastfrequenzen. Die Transienten zeigen, dass die Veränderungen der spektralen Einhüllenden auf der gleichen Zeitskala entstehen wie der heiße Grundzustand des umgebenden Wassers (Abbildung 7a).

Die starke Veränderung der $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Bande nach OH-Strekanregung der Wasserhülle ist auf Veränderungen der lokalen Wasser-Phosphat-Wechselwirkung zurückzuführen, d.h. auf Änderungen der Wasserstoffbrückenstruktur. Im heißen Grundzustand der Wasserhülle ist ein größerer Anteil von Wasserstoffbrücken zwischen Wassermolekülen und zwischen Wassermolekülen und Phosphatgruppen gebrochen. Mit abnehmender Zahl von Wasserstoffbrücken verschiebt sich die $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Schwingungsbande zu höheren Frequenzen, wie die bei positiven Verzögerungszeiten gemessenen transienden Spektren in Abbildung 11 zeigen. Unter statioären Bedingungen lässt sich eine ähnliche Verschiebung durch eine Reduktion des Hydratisierungsgrades herbeiführen (siehe Einschub in Abbildung 1b). Die Differenz $\delta A = A(0\% \text{ r.h.}) - A(92\% \text{ r.h.})$ der stationären $\nu_{as}(PO_2)^-$ -Spektren

für 0 % r.h und 92 % r.h. ist als durchgezogene Linie in Abbildung 11 gezeigt. Dieses Differenzspektrum ist in seiner Form mit einer Absorptionsabnahme bei niedrigen und einer Zunahme bei hohen Frequenzen den transienten Spektren sehr ähnlich. Die qualitative Übereinstimmung der Linienform in den transienten und den stationären Spektren legt nahe, dass ein signifikanter Bruchteil der Wasser-Phosphat-Wasserstoffbrücken im heißen Grundzustand der Wasserhülle gebrochen ist.

Die kleinere Zahl von Wasser-Phosphat-Brücken im heißen Grundzustand ist äquivalent zu einer reduzierten Kopplung zwischen Wasser und DNA. Hingegen existiert eine starke Kopplung zwischen Wassermolekülen an den Phosphatgruppen und anderen Wassermolekülen der Umgebung. Im Ergebnis sollte deshalb der Energiefluss aus der heißen Wasserhülle in die DNA gering sein im Vergleich zur Energieausgleichsrate innerhalb der wässrigen Umgebung. Dieses Verhalten begünstigt ein Fortbestehen des heißen Wasserganzzustands für Hunderte von Pikosekunden, d.h. für eine Dauer, die das Zeitintervall des Energietransports innerhalb der DNA von ca. 20 ps deutlich übersteigt.

6. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Aufsatz haben wir kürzlich erzielte Ergebnisse zur ultraschnellen Schwingungsdynamik von DNA bei unterschiedlichen Hydratisierungsgraden zusammengefasst. Die Ergebnisse unterstreichen das Potenzial der nichtlinearen Infrarotspektroskopie im Femtosekundenzeitbereich für die Trennung und Zuweisung von DNA- und Wasserschwingungen, die Bestimmung der Schwingungskopplungen und die Untersuchung der mikroskopischen Prozesse, welche die Dynamik der Wasserhüllen bestimmen. Polarisationsaufgelöste Anrege-Abtast-Experimente und 2D-Schwingungsspektren beweisen die gegenseitige Kopplung unterschiedlicher NH-Streckschwingungen in Adenin-Thymin-Basenpaaren in DNA-Oligomeren. Die NH-Streckbande von Thymin und die symmetrische NH₂-Streckbande von Adenin weisen eine nahezu identische Frequenzposition bei 3200 cm⁻¹ auf, die Kopplungsstärke zwischen den Schwingungen beträgt ca. 15 cm⁻¹. Bei einem niedrigen Hydratisierungsgrad von 2 Wassermolekülen pro Basenpaar wechselwirken die Wassermoleküle primär mit den Phosphatgruppen und bilden eine starre Struktur, in der ihre Rotation weitgehend unterdrückt ist. Im Fall vollständig hydratisierter DNA ist die Dynamik der Wasserhülle dem Verhalten des reinen Wassers ähnlicher, und man beobachtet spektrale Diffusion der OH-Streckschwingung und damit einen Verlust des strukturellen Gedächtnisses im Subpikosekundenbereich, einen Zerfall der Schwingungsanisotropie durch Molekülrotation und/oder Energietransfer und die Bildung eines heißen Grundzustandes des Wassers nach dem Zerfall der OH-Streckschwingungsanregung.

Die Untersuchung der asymmetrischen $\nu_{as}(PO_2^-)$ -Streckschwingung gibt spezifischen Einblick in die lokale Wechselwirkung von Wasser mit den ionischen Phosphatgruppen im DNA-Rückgrat. Die Wasserhülle um vollständig hydratisierte DNA ist die primäre Wärmesenke für Überschussenergie

aus der DNA, wobei die Energietransferzeiten im Femtosekundenbereich liegen. Im Unterschied zu diesem ultraschnellen Prozess erfolgt Energietransport innerhalb der DNA auf einer langsameren Zeitskala von ungefähr 20 ps. Die Kopplung zwischen Wasser und DNA ist im heißen Grundzustand der Wasserhülle vergleichsweise schwach, was wahrscheinlich auf die reduzierte Zahl an Wasserstoffbrücken mit den Phosphatgruppen zurückzuführen ist.

In der Zukunft werden systematische Messungen zweidimensionaler (2D) Infrarotspektren detaillierten Einblick in Schwingungskopplungen und Energietransferprozesse geben. Kopplungen zwischen Schwingungen stark unterschiedlicher Frequenz werden sich durch Zweifarben-2D-Spektren bestimmen lassen. In Verbindung mit theoretischen Berechnungen werden derartige Daten eine quantitative Analyse der komplexen Kopplungsschemata ermöglichen. Eine weitere zukünftige Forschungsrichtung ist die Untersuchung der Energiedissipation während und nach dem strahlunglosen Zerfall elektronisch angeregter Zustände der DNA. Bei diesen Prozessen werden sehr große Überschussenergien von ca. 30000 cm⁻¹ umverteilt. Femtosekunden-Schwingungsspektroskopie ist eine vielversprechende Methode, um Pfade des Energieflusses und damit die Mechanismen aufzuklären, die zur hohen Photostabilität von DNA führen.

Wir danken Jason R. Dwyer für seine Beiträge zu den hier vorgestellten Ergebnissen und Jens Dreyer für seine Hilfe bei der Erstellung des Titelbildes. Unsere Forschungsarbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Sonderforschungsbereich 450) und den Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.

Eingegangen am 9. Oktober 2009

-
- [1] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737–738.
 - [2] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer, New York, **1984**.
 - [3] H. Edelhoch, J. C. Osborne, Jr., *Adv. Protein Chem.* **1976**, *30*, 183–250.
 - [4] H. R. Drew, R. E. Dickerson, *J. Mol. Biol.* **1981**, *151*, 535–556.
 - [5] W. Saenger, W. N. Hunter, O. Kennard, *Nature* **1986**, *324*, 385–388.
 - [6] B. Schneider, K. Patel, H. M. Berman, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 2422–2434.
 - [7] M. Tsuboi, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1351–1354.
 - [8] M. Falk, K. A. Hartman, R. C. Lord, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3843–3846.
 - [9] M. Falk, K. A. Hartman, Jr., R. C. Lord, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 387–391.
 - [10] B. Prescott, W. Steinmetz, G. J. Thomas, Jr., *Biopolymers* **1984**, *23*, 235–256.
 - [11] E. Liepinsh, G. Otting, K. Wüthrich, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 6549–6553.
 - [12] B. Halle, V. P. Denisov, *Biopolymers* **1998**, *48*, 210–233.
 - [13] A. T. Phan, J. L. Leroy, M. Guéron, *J. Mol. Biol.* **1999**, *286*, 505–519.
 - [14] A. M. J. J. Bonvin, M. Sunnerhagen, G. Otting, W. F. van Gunsteren, *J. Mol. Biol.* **1998**, *282*, 859–873.
 - [15] S. Pal, P. K. Maiti, B. Bagchi, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 234903.
 - [16] N. Korolev, A. P. Lyubartsev, A. Laaksonen, L. Nordenskiöld, *Biophys. J.* **2002**, *82*, 2860–2875.

- [17] D. Eisenberg, W. Kauzmann, *The Structure and Properties of Water*, Oxford University Press, New York, **1969**.
- [18] *Water, a Comprehensive Treatise* (Hrsg.: F. Franks), Plenum, New York, **1972**.
- [19] I. Ohmine, S. Saito, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 741–749.
- [20] S. K. Pal, L. Zhao, T. Xia, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 13746–13751.
- [21] D. Andreatta, L. Pérez Lustres, S. A. Kovalenko, N. P. Ernsting, C. J. Murphy, R. S. Coleman, M. A. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7270–7271.
- [22] S. Sen, D. Andreatta, S. Y. Ponomarev, D. L. Beveridge, M. A. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1724–1735.
- [23] S. Pal, P. K. Maiti, B. Bagchi, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 26396–26402.
- [24] K. E. Furse, S. A. Corcelli, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13103–13109.
- [25] *Ultrafast Infrared and Raman Spectroscopy* (Hrsg.: M. D. Fayer), Dekker, New York, **2001**.
- [26] E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1887–1914.
- [27] R. Laenen, C. Rauscher, A. Laubereau, *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *80*, 2622–2625.
- [28] G. M. Gale, G. Gallot, F. Hache, N. Lascoux, S. Bratos, J. C. Leicknam, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*, 1068–1071.
- [29] S. Woutersen, H. J. Bakker, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *83*, 2077–2080.
- [30] J. Stenger, D. Madsen, P. Hamm, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *87*, 027401.
- [31] J. Stenger, D. Madsen, P. Hamm, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 2341–2350.
- [32] S. Yeremenko, M. S. Pshenichnikov, D. A. Wiersma, *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *369*, 107–113.
- [33] C. J. Fecko, J. D. Eaves, J. J. Loparo, A. Tokmakoff, P. L. Geissler, *Science* **2003**, *301*, 1698–1702.
- [34] J. B. Asbury, T. Steinel, K. Kwak, C. P. Lawrence, J. L. Skinner, M. D. Fayer, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 12431–12446.
- [35] R. Rey, K. B. Møller, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11993–11996.
- [36] A. Piryatinski, C. P. Lawrence, J. L. Skinner, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 9664–9671.
- [37] A. Piryatinski, C. P. Lawrence, J. L. Skinner, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 9672–9679.
- [38] K. B. Møller, R. Rey, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 1275–1289.
- [39] J. D. Eaves, A. Tokmakoff, P. L. Geissler, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 9424–9436.
- [40] M. L. Cowan, B. D. Bruner, N. Huse, J. R. Dwyer, B. Chugh, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, R. J. D. Miller, *Nature* **2005**, *434*, 199–202.
- [41] D. Kraemer, M. L. Cowan, A. Paarmann, N. Huse, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, R. J. D. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 437–442.
- [42] D. Laage, J. T. Hynes, *Science* **2006**, *311*, 832–835.
- [43] S. Woutersen, H. J. Bakker, *Nature* **1999**, *402*, 507–509.
- [44] Eine aktuelle Übersicht: *Coherent Multidimensional Optical Spectroscopy* (Hrsg.: S. Mukamel, Y. Tanimura, P. Hamm), *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*(9), 1207–1469.
- [45] A. T. Krummel, P. Mukherjee, M. T. Zanni, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 9165–9169.
- [46] A. T. Krummel, M. T. Zanni, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 13991–14000.
- [47] A. J. Lock, H. J. Bakker, *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 1708–1713.
- [48] N. Huse, S. Ashihara, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *404*, 389–393.
- [49] S. Ashihara, N. Huse, A. Espagne, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *424*, 66–70.
- [50] S. Ashihara, N. Huse, A. Espagne, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 743–746.
- [51] F. Ingrosso, R. Rey, T. Elsaesser, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 6657–6665.
- [52] R. Rey, F. Ingrosso, T. Elsaesser, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 8949–8962.
- [53] E. B. Brown, W. L. Peticolas, *Biopolymers* **1975**, *14*, 1259–1271.
- [54] S. C. Erfurth, E. J. Kiser, W. Peticolas, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1972**, *69*, 938–941.
- [55] Y. Nishimura, K. Morikawa, M. Tsuboi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1974**, *47*, 1043–1044.
- [56] C. Plützer, I. Huenig, K. Kleinermanns, E. Nir, M. S. de Vries, *ChemPhysChem* **2003**, *4*, 838–842.
- [57] K. Heyne, G. M. Krishnan, O. Kühn, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 7909–7915.
- [58] G. M. Krishnan, O. Kühn, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *435*, 132–135.
- [59] J. R. Dwyer, Ł. Szyc, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 11194–11197.
- [60] P. B. Keller, K. A. Hartman, *Spectrochim. Acta Part A* **1986**, *42*, 299–306.
- [61] S. Mukamel, *Principles of Nonlinear Optical Spectroscopy*, Oxford, New York, **1995**.
- [62] P. Hamm, M. Lim, R. M. Hochstrasser, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 6123–6138.
- [63] M. C. Asplund, M. T. Zanni, R. M. Hochstrasser, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 8219–8224.
- [64] S. Mukamel, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2000**, *51*, 691–729.
- [65] K. Okumura, A. Tokmakoff, Y. Tanimura, *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *314*, 488–495.
- [66] D. M. Jonas, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2003**, *54*, 425–463.
- [67] R. A. Kaindl, M. Wurm, K. Reimann, P. Hamm, A. M. Weiner, M. Woerner, *J. Opt. Soc. Am. B* **2000**, *17*, 2086–2094.
- [68] K. Tanaka, Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10679–10683.
- [69] C. Yang, D. Moses, A. J. Heeger, *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 1364–1367.
- [70] C. Y. Yang, W. J. Yang, D. Moses, D. Morse, A. J. Heeger, *Synth. Met.* **2003**, *137*, 1459–1460.
- [71] Ł. Szyc, J. R. Dwyer, E. T. J. Nibbering, T. Elsaesser, *Chem. Phys.* **2009**, *357*, 36–44.
- [72] V. Kozich, Ł. Szyc, E. T. J. Nibbering, W. Werncke, T. Elsaesser, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, *473*, 171–175.
- [73] D. Cringus, A. Bakulin, J. Lindner, P. Voehringer, M. S. Pshenichnikov, D. A. Wiersma, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 14193–14207.
- [74] H. S. Tan, I. R. Piletic, R. E. Riter, N. E. Levinger, M. D. Fayer, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 057405.
- [75] M. Klähn, G. Mathias, C. Kötting, M. Nonella, J. Schlitter, K. Gerwert, P. Tavan, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 6186–6194.
- [76] P. Hamm, S. M. Ohline, W. Zinth, *J. Chem. Phys.* **1997**, *106*, 519–529.
- [77] E. H. G. Backus, P. H. Nguyen, V. Botan, R. Pfister, A. Moretto, M. Crisma, C. Toniolo, G. Stock, P. Hamm, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 9091–9099.
- [78] Z. Wang, J. A. Carter, A. Lagutchev, Y. Kan Koh, N. H. Seong, D. G. Cahill, D. D. Dlott, *Science* **2007**, *317*, 787–790.