

Strukturuntersuchungs- methoden in der Medizin.

Dr. Balázs Kiss

Myofilament-Mechanobiophysik Forschungsgruppe,
Institut für Biophysik und Strahlenbiologie.

19. November 2025.



SEMMELWEIS
UNIVERSITY 1769

Überblick: Strukturuntersuchungsmethoden in der medizinischen Forschung

1. Spektroskopische Verfahren

- a) Fluoreszenzspektroskopie
- b) Absorptionsspektroskopie
- c) Infrarotspektroskopie

2. Mikroskopie

- a) Lichtmikroskop
- b) Spezielle Lichtmikroskope (Stereo-, Polarisations-, Phasenkontrast-, Fluoreszenzmikroskop, CLSM)
- c) Superresolutionsmikroskope (SIM, STED)
- d) Elektronenmikroskope (TEM, SEM)
- e) Rastersondenmikroskope (AFM)

3. Diffraktionsmethoden

- a) Röntgendiffraktion
- b) Elektronendiffraktion
- c) Neutronendiffraktion

Infrarotspektroskopie

- Infrarotes Licht (IR): $\lambda = 800 \text{ nm} - 1000 \text{ }\mu\text{m}$



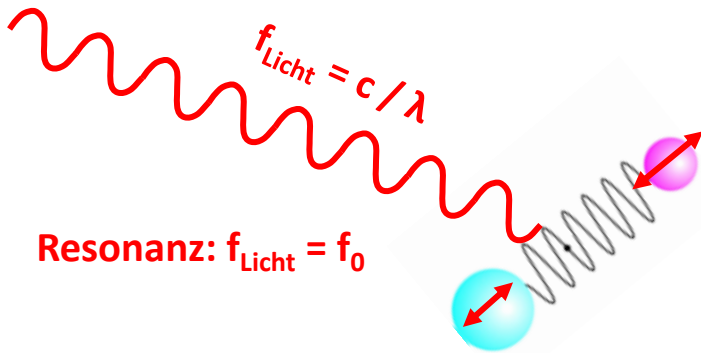
Nahe IR (NIR oder IR-A): 800 nm – 2,5 μm

Mittleres IR (MIR oder IR-B): 2,5-50 μm

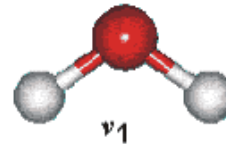
Ferne IR (FIR oder IR-C): 50 μm – 1000 μm

- Ein Typ der Absorptionsspektroskopie

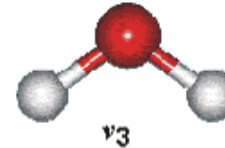
- IR-Lichtabsorption induziert **Molekülschwingungen** \longrightarrow **Molekülstruktur**



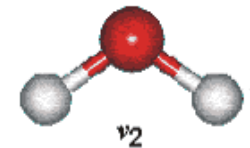
Beispiel:
H₂O
Molekül



Symmetrische
Valenzschwingung

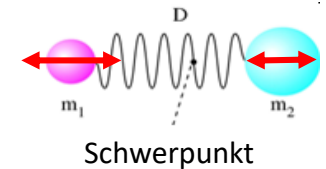
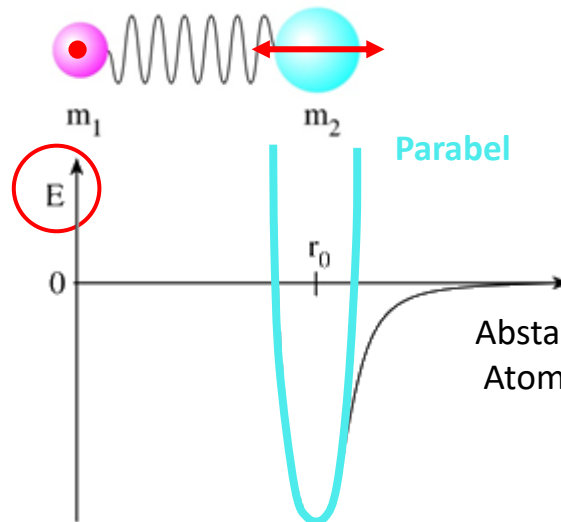


Antisymmetrische
Valenzschwingung



Deformations-
schwingung

$$E_{\text{Feder}} = \frac{1}{2} D \cdot \Delta x^2 \quad \text{Parabel}$$



$$f_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{D}{m_{\text{red}}}}$$

$$m_{\text{red}} = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$$

$D \sim 1000 \text{ N/m}$

$f_0 \sim 5 \cdot 10^{13} \text{ Hz}$

bei Molekülschwingungen

- Alle Atome schwingen mit **derselben Frequenz** aber mit **unterschiedlichen Amplitude und Richtung**.

- Die Atome müssen **elektrisches Dipolmoment (p)** besitzen: $p = q \cdot d$

q: Ladung

d: Abstand

Anwendung: Identifizierung der Moleküle, Beweis des Raumstrukturs

Statt Wellenlänge verwendet man die **Wellenzahl** (ν , Reziprok der Wellenlänge):

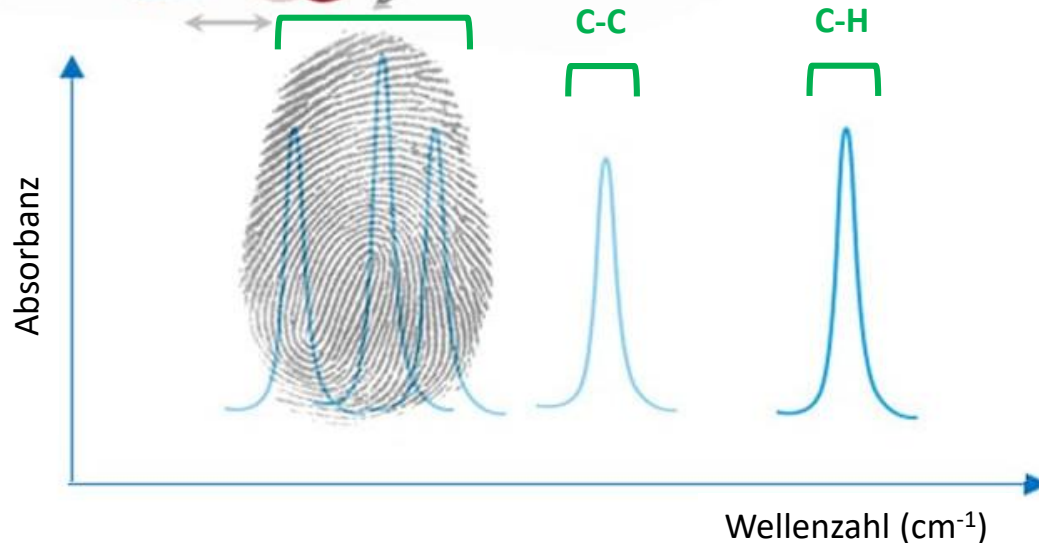
$$\nu = \frac{1}{\lambda}$$

ν : [m^{-1} , cm^{-1}]

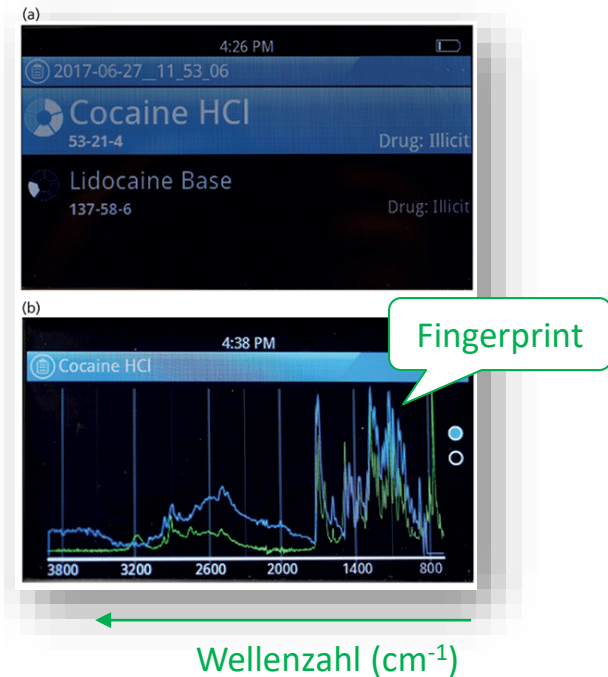
direkt proportional zur Photonenenergie

molekül-
spezifisch

Fingerprint
Region

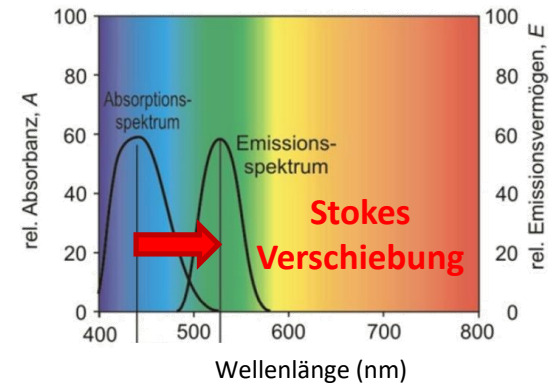
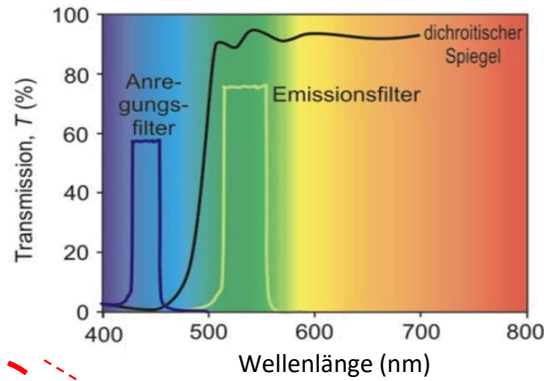
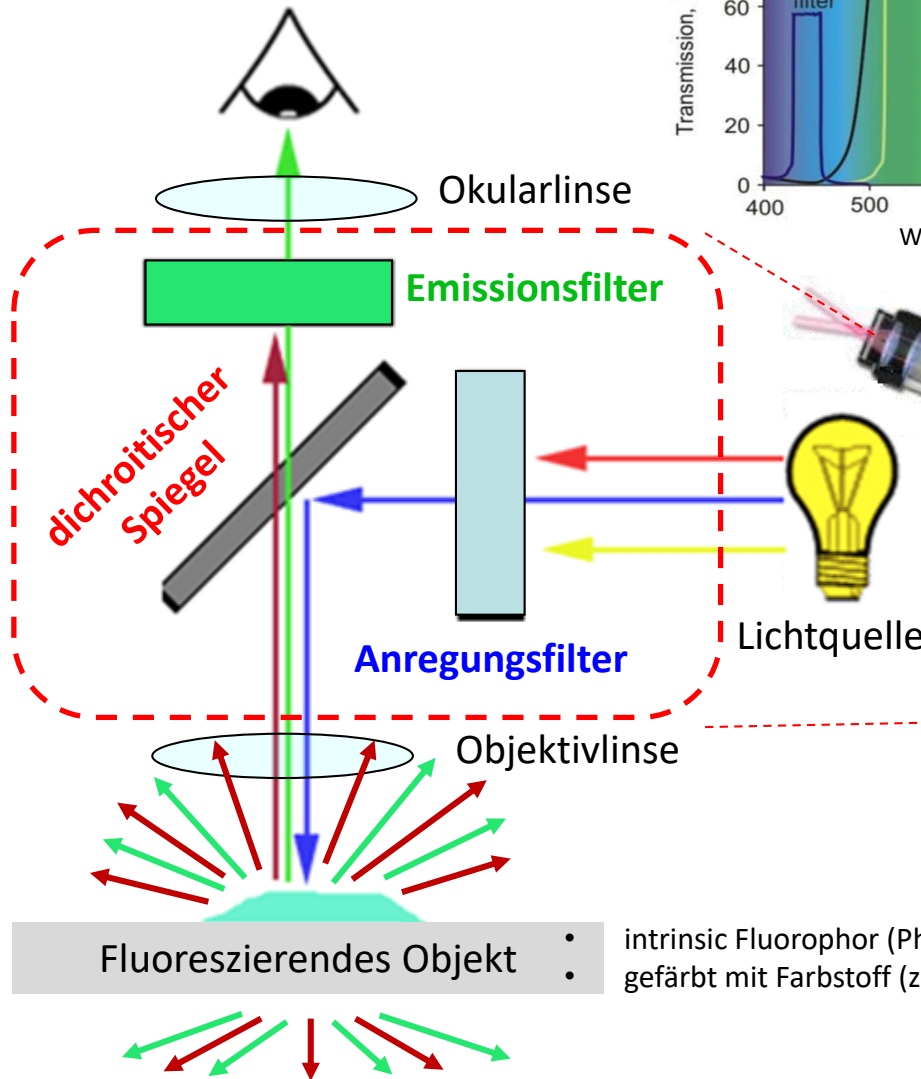


Identifizierung der Moleküle
mithilfe einer Spektrumbibliothek

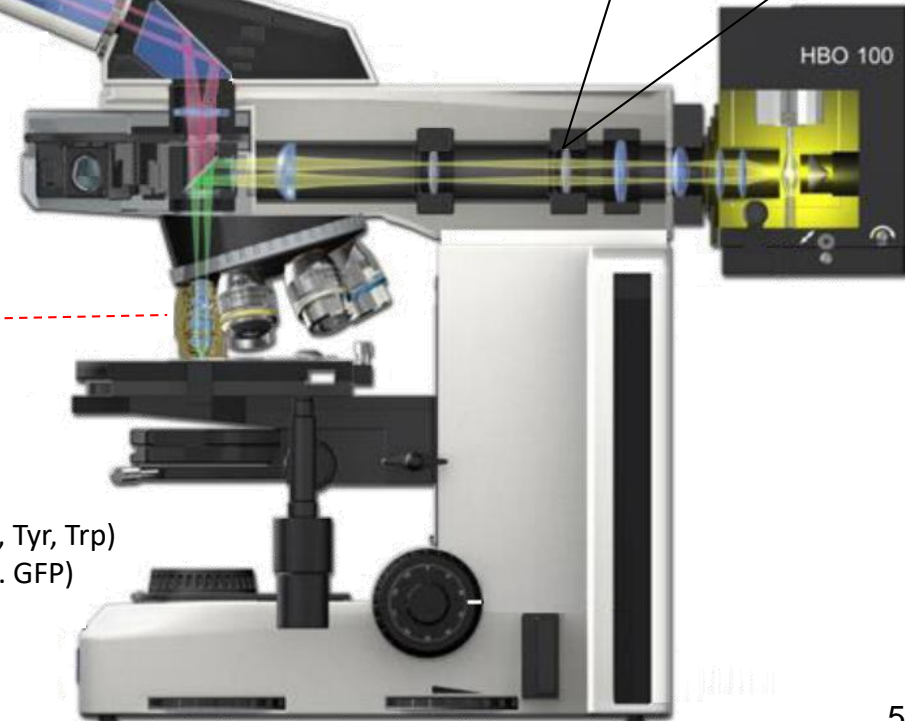


Fluoreszenzmikroskop

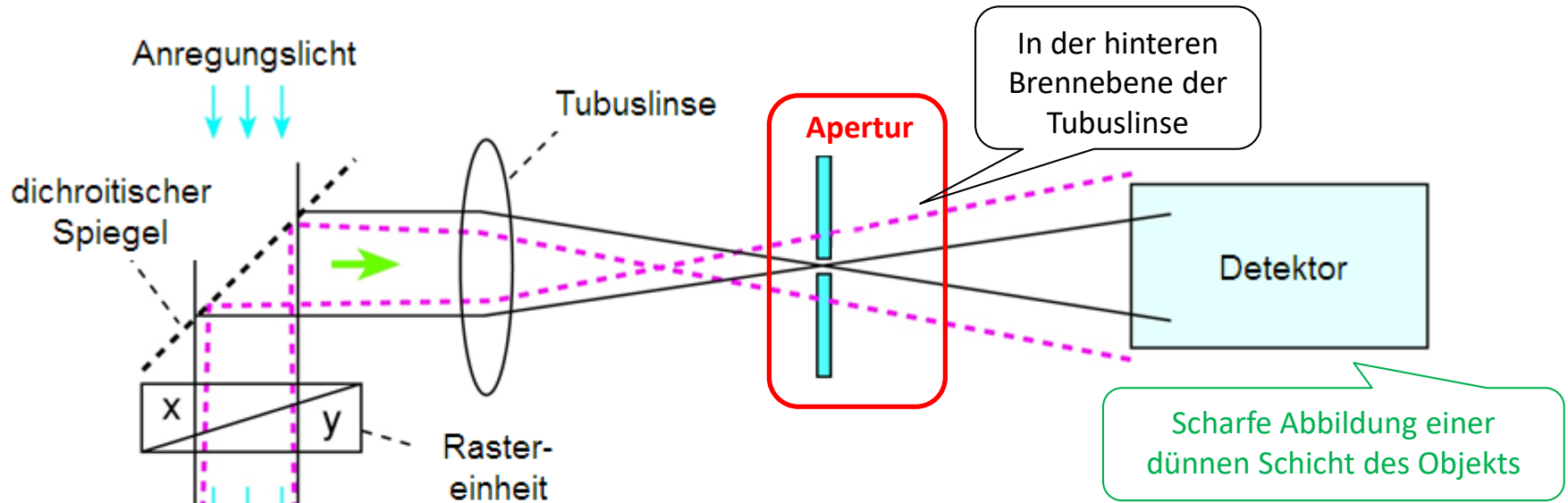
Epifluoreszenz-Anordnung



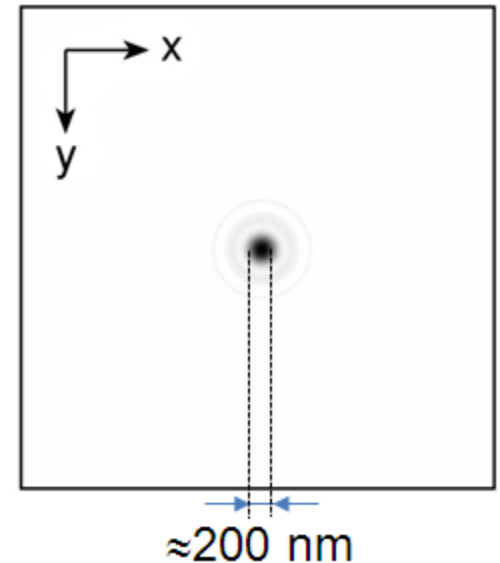
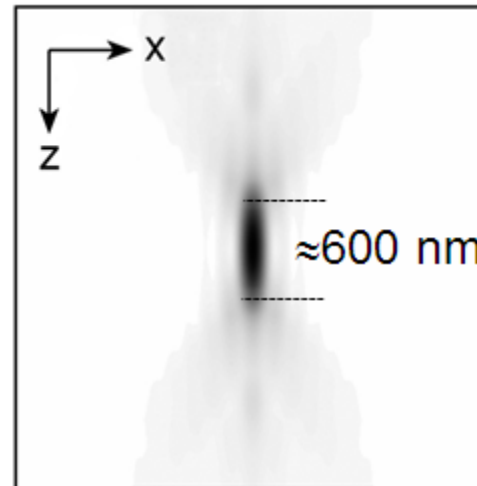
„Auflicht-Fluoreszenzmikroskop“: Anregungslicht wird über das Objektiv in das Präparat eingestrahlt.



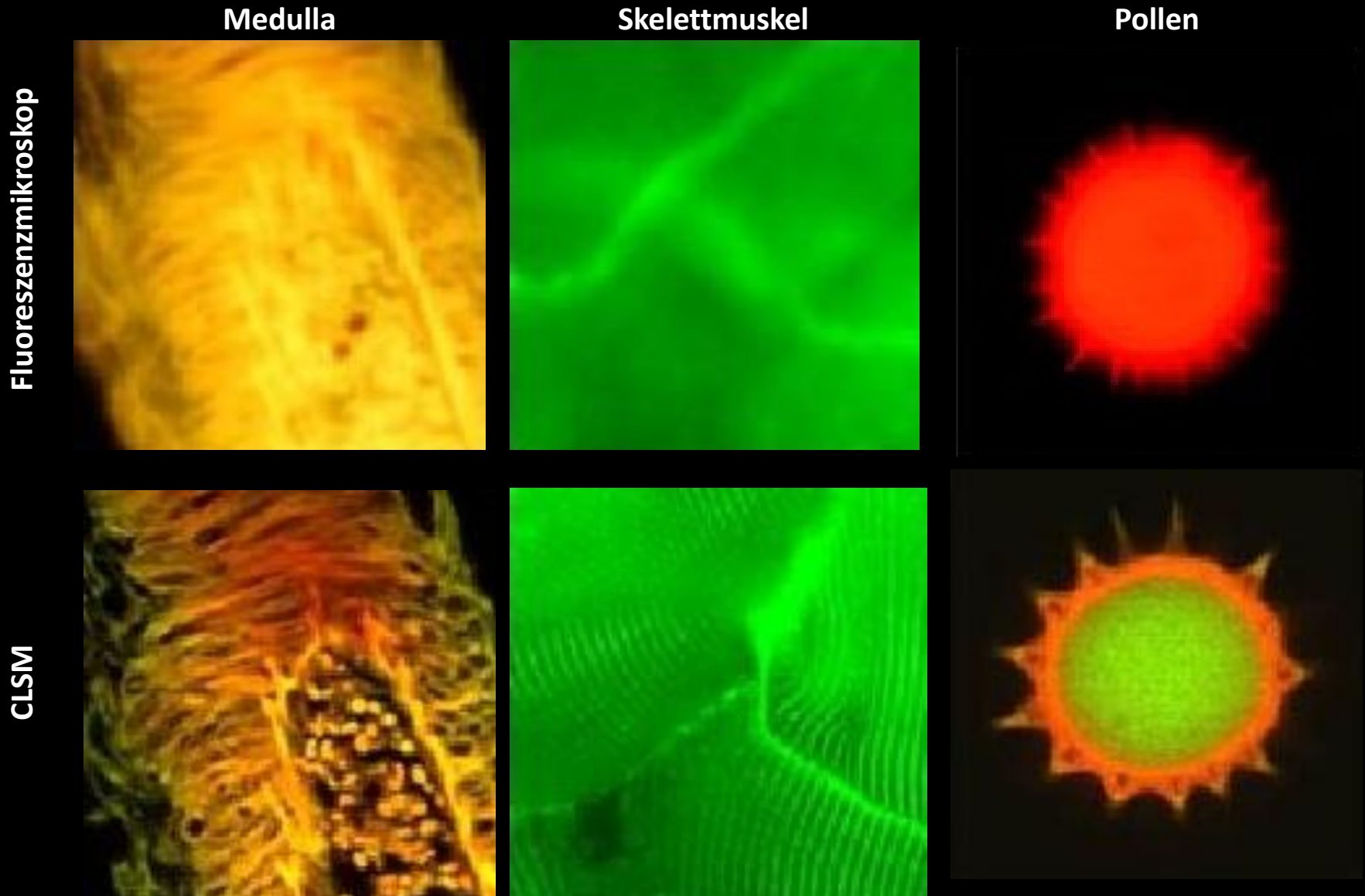
Konfokales Laser Rastermikroskop (CLSM)



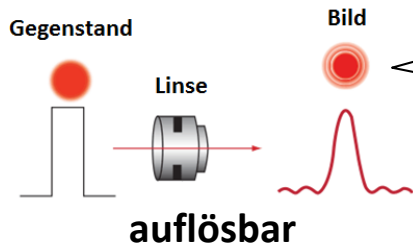
Größe des konfokalen Volumenelements



Vergleichung: CLSM und Fluoreszenzmikroskop



Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops

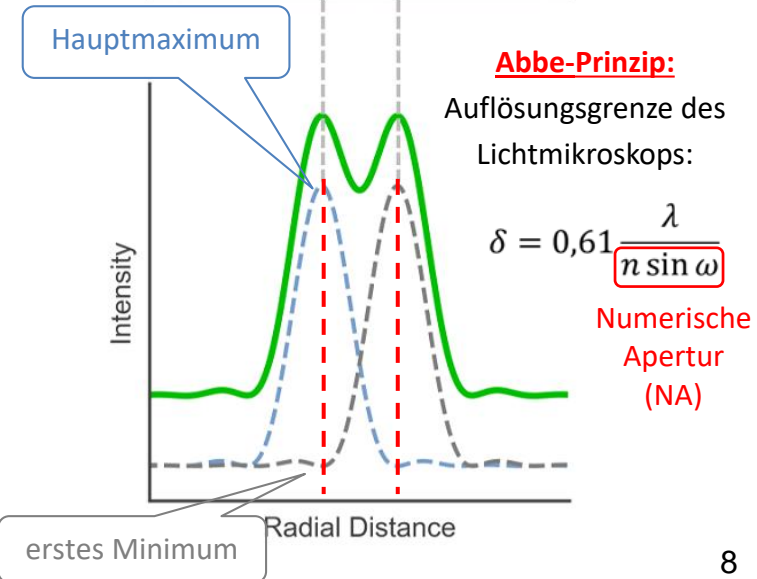
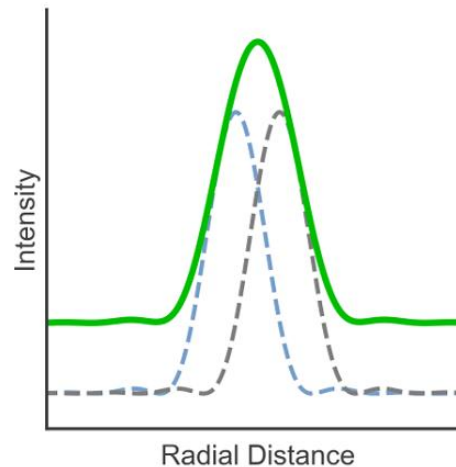
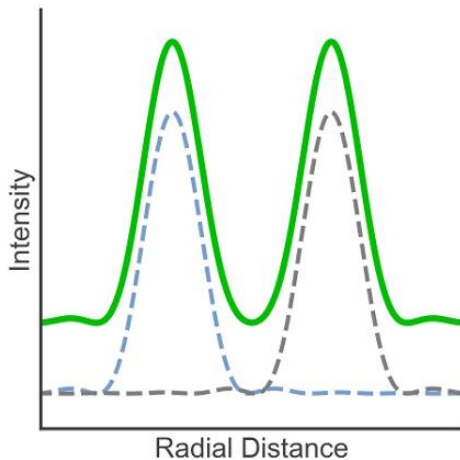
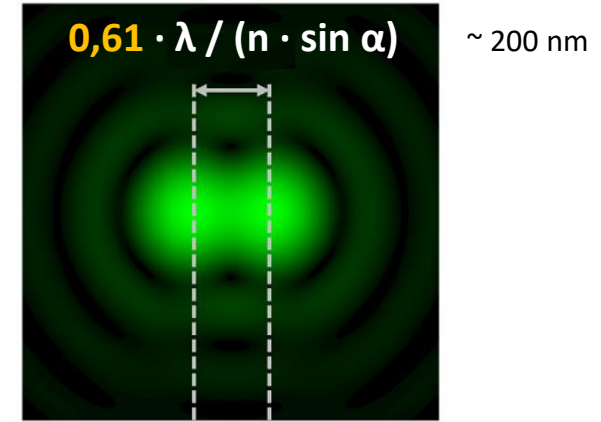
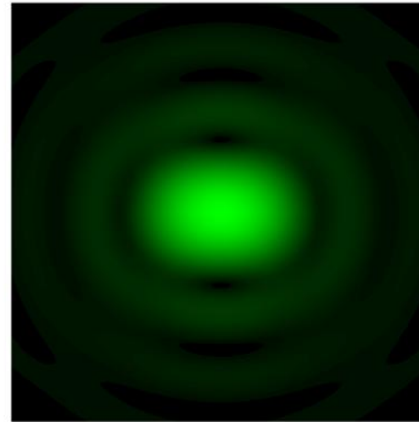
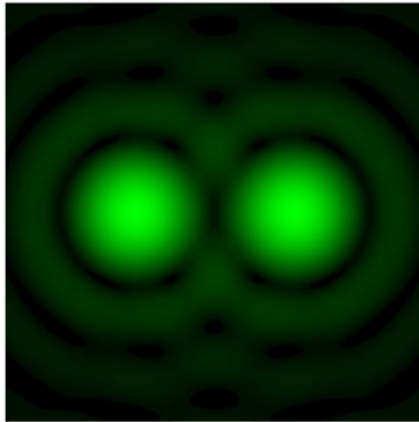


Airy-Scheibe:
zentrales Maximum, umgeben von
Ringen abnehmender Intensität
wegen der Beugung des Lichtes

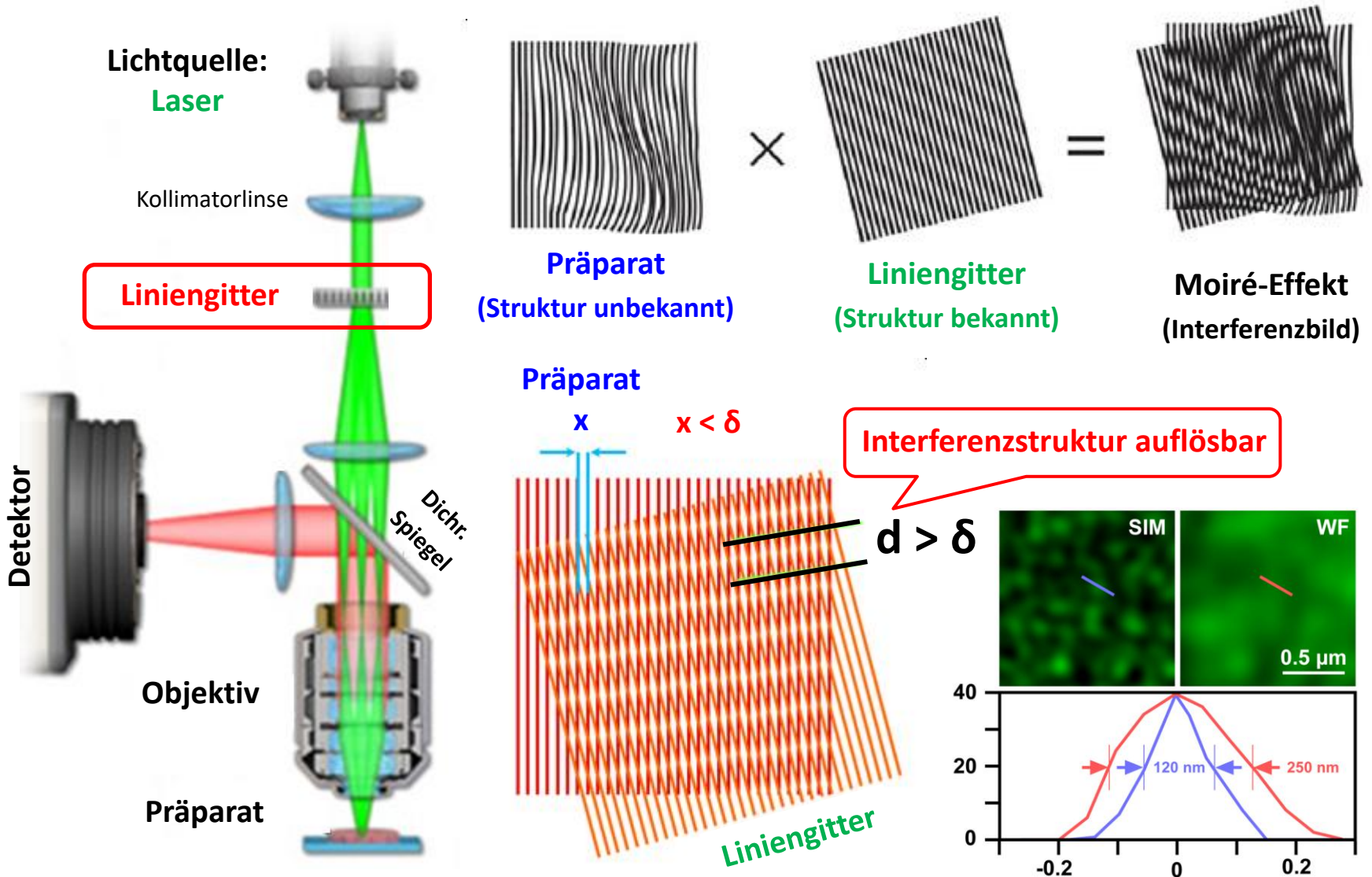
nicht mehr auflösbar

Rayleigh-Grenzfall:

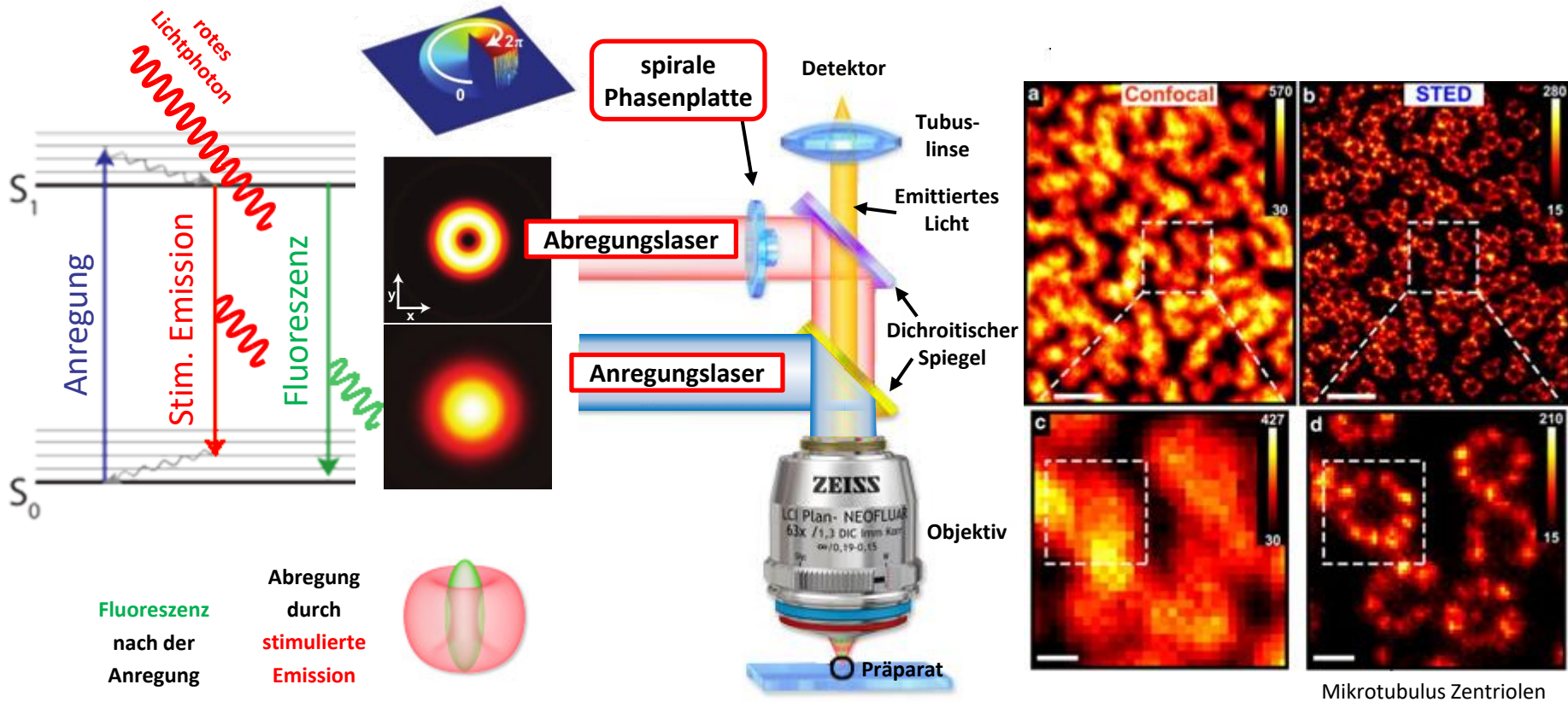
Hauptmaximum stimmt mit dem
ersten Minimum der
benachbarten Beugungsscheibe



Mikroskopie mit strukturierter Beleuchtung, Structured Illumination Microscopy (SIM)



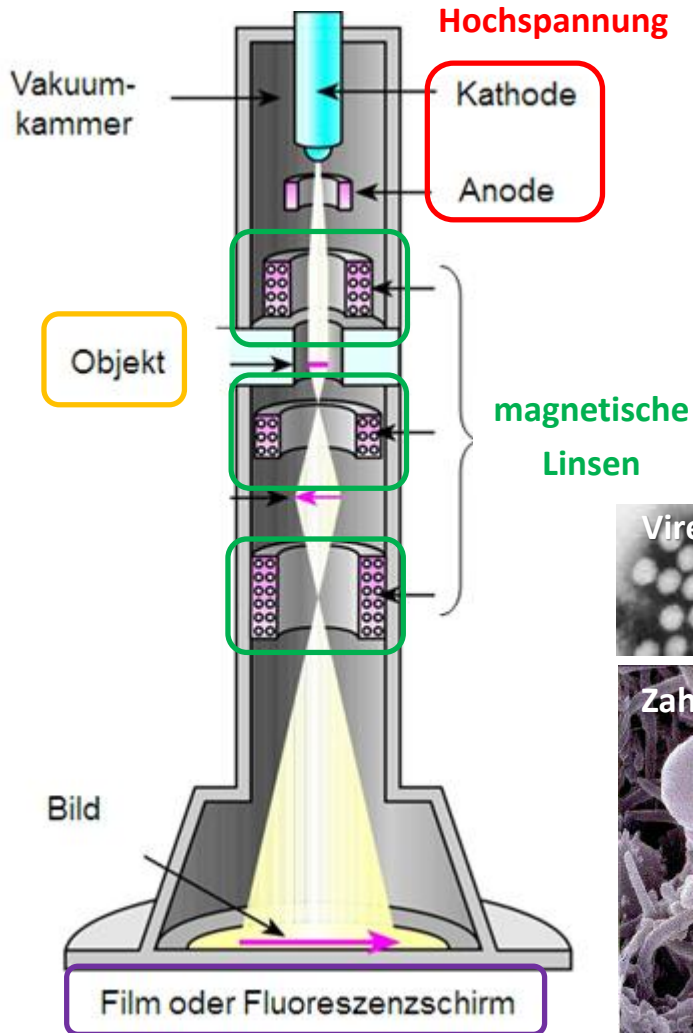
Stimulierte Emission Depletion Mikroskopie (STED)



- **Anregung** und danach **Abregung** der Fluorophoren durch **stimulierte Emission**.
- **Spirale Phasenplatte**: Abregung in einem torusförmigen Raumteil.
- **Abtastung** ist notwendig.

Elektronenmikroskope

Transmissions-Elektronenmikroskop (TEM)



Auflösungsgrenze (δ):

$$\delta \approx \frac{\lambda}{NA}$$

$$NA \approx 0,03$$

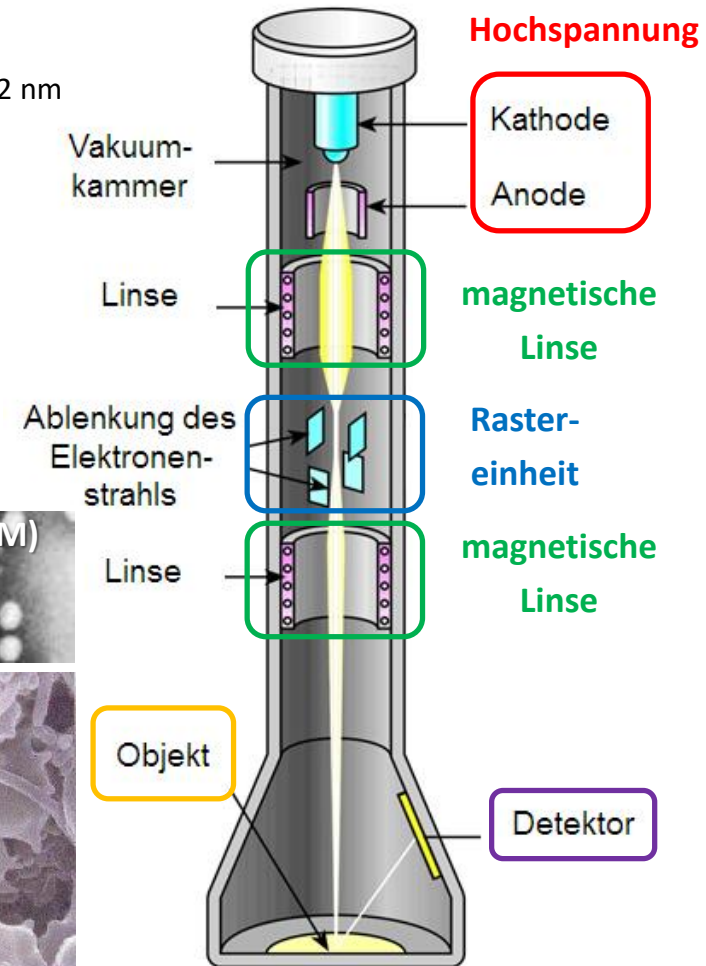
$$\lambda \approx 0,005 \text{ nm}$$

$$\delta \approx 0,2 \text{ nm}$$

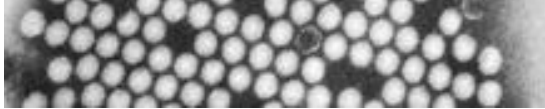
de Broglie
Wellenlänge von
Materiewellen

$$\lambda = \frac{h}{m \cdot v}$$

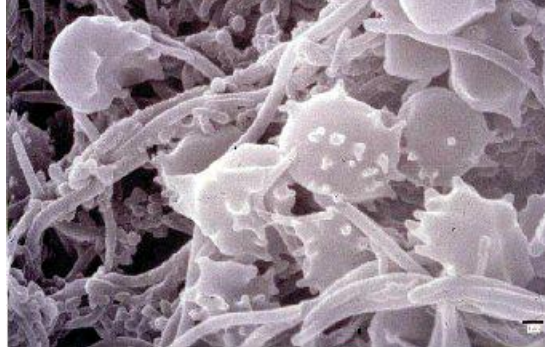
Raster-Elektronenmikroskop (SEM)



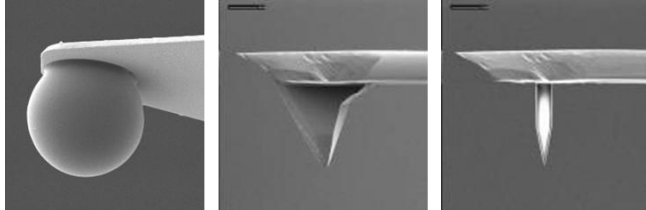
Viren der Kinderlähmung (TEM)



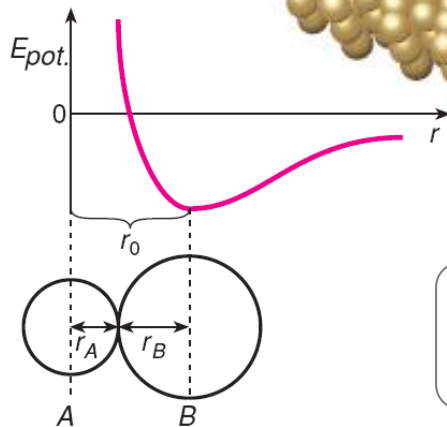
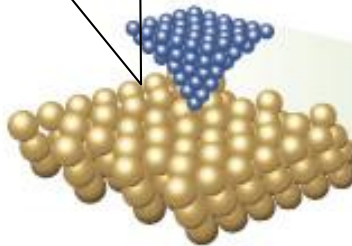
Zahnplaque (SEM)



Rasterkraftmikroskop (Atomic Force Microscope, AFM)



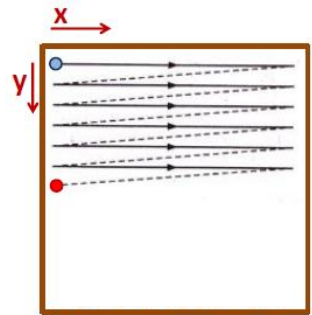
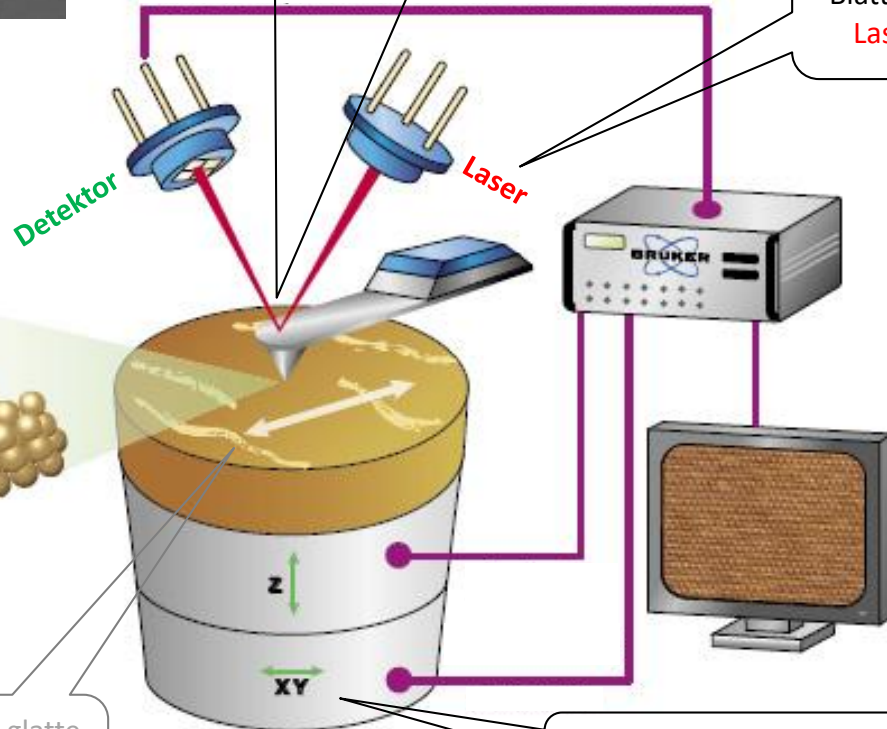
1. Van der Waals Wechselwirkung zwischen den Atomen der Nadel und des Präparats.



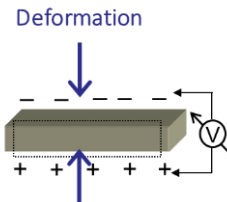
atomar glatte Oberfläche (Glimmer)

2. Die Blattfeder („Cantilever“) wird wegen der Van der Waals Kräfte verbogen.

3. Die Verbiegung einer Blattfeder wird mit einem Laserstrahl gemessen.

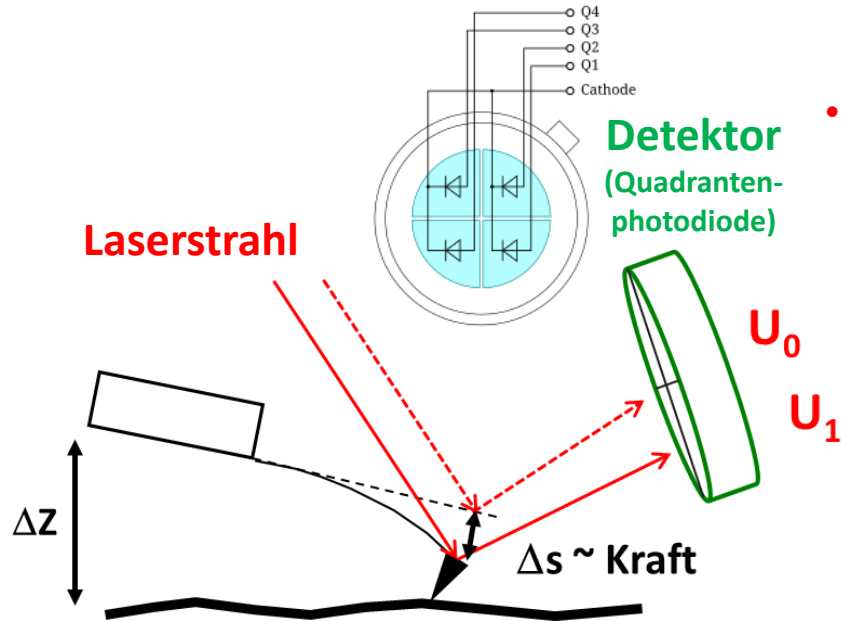


4. Rasterprinzip: die Probe (oder das Präparat) wird in X-Y Richtungen bewegt.



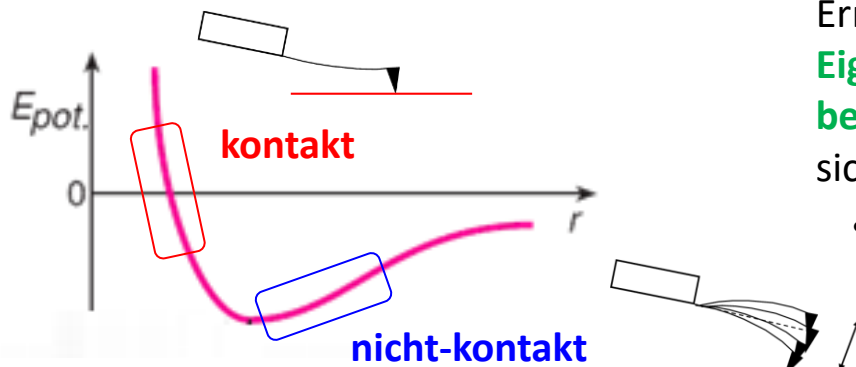
Inverser piezoelektrischer Effekt:
Spannung \rightarrow Deformation
150 V \rightarrow 40 μ m

AFM Betriebsarten



Van der Waals Kraft

$F = D \cdot \Delta s$ (Hookesches Gesetz)
 Δs : Abbiegung der Blattfeder
 D: Federkonstante



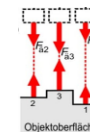
- **Kontakt:** die Nadel steht in direktem mechanischem Kontakt mit dem Präparat, die **Abbiegung der Feder** liefert die topographische Information.

- **Z-Rückkopplung:** die Abbiegung der Nadel wird mit dem „Setpoint“ verglichen. Die Regelung bewegt dann die Nadel entlang der Z-Achse bis die Auslenkung dem Setpoint entspricht.
- **Die topographische Information** (zB. Höhe) wird in jedem X-Y Bildpunkt aus der ΔZ Höhenänderung der Nadel errechnet.

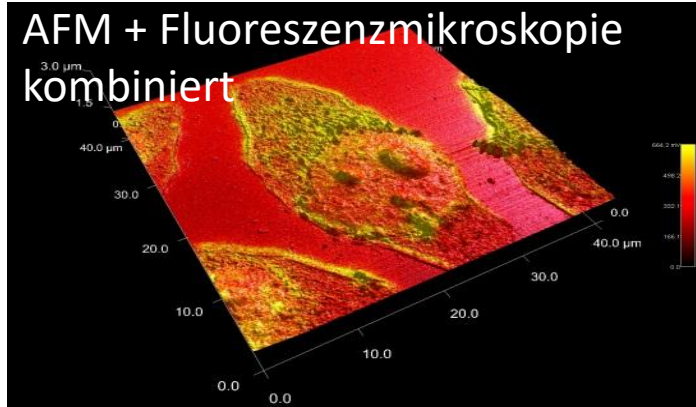
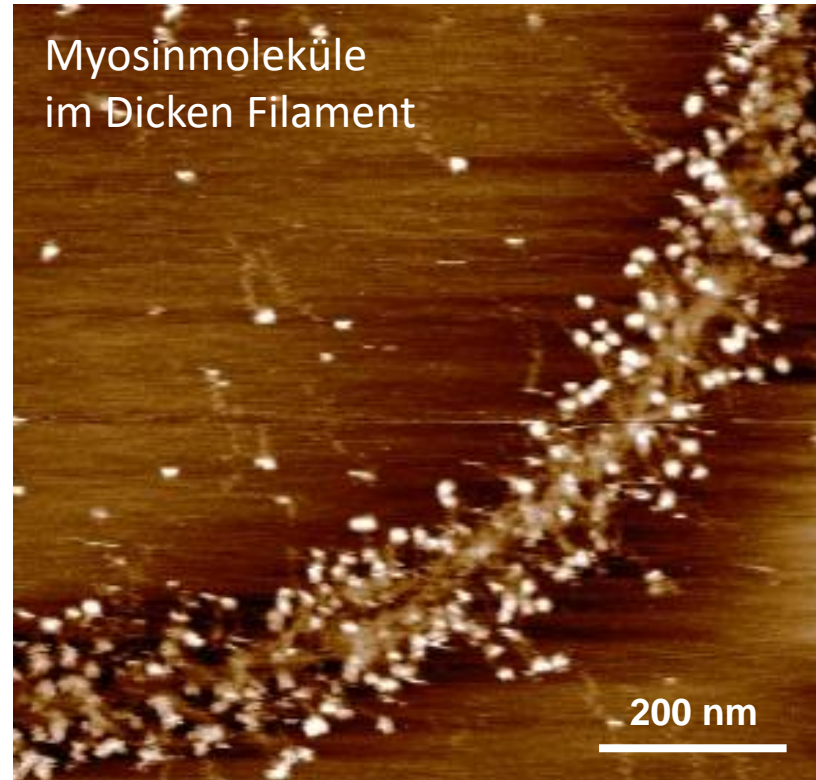
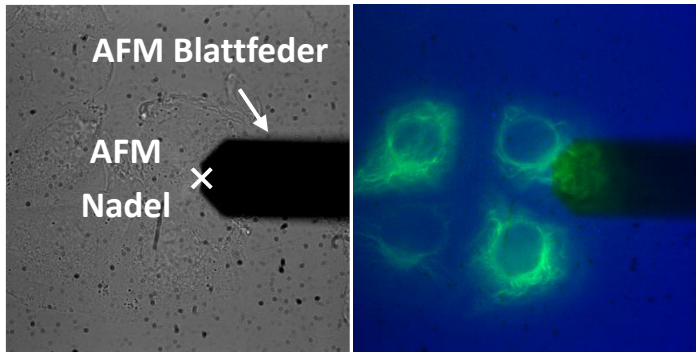
- **Nicht-Kontakt:** die Nadel schwingt mit einer Erregerfrequenz ($f_{err} \approx f_0$) über dem Präparat. Die **Eigenfrequenz (f_0) - und dadurch die Amplitude bei der eingestellten Erregerfrequenz** - ändern sich mit der Topographie des Präparats.

- **Z-Rückkopplung:** sorgt für eine **konstante Amplitude** mit der ΔZ Höhenänderung.

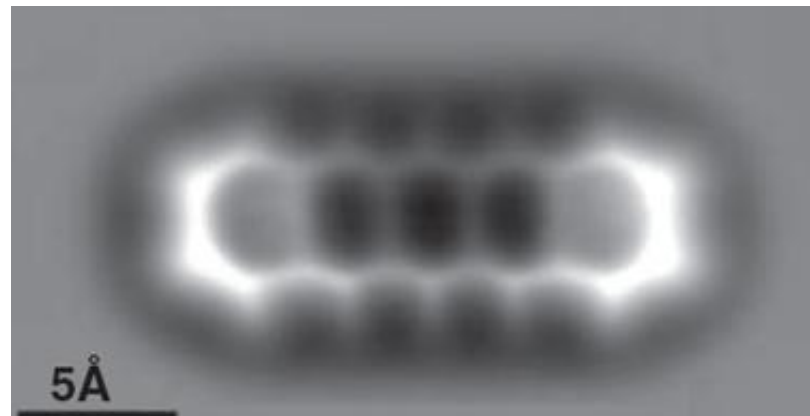
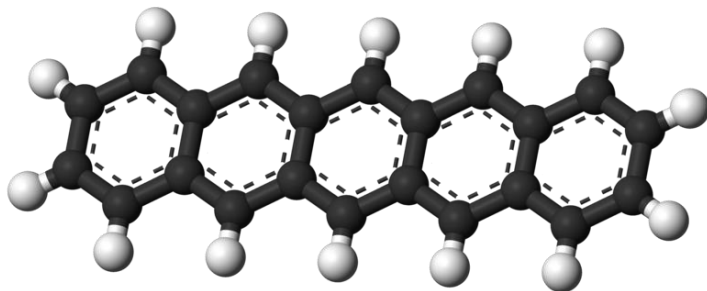
$$f_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{D}{m}}$$



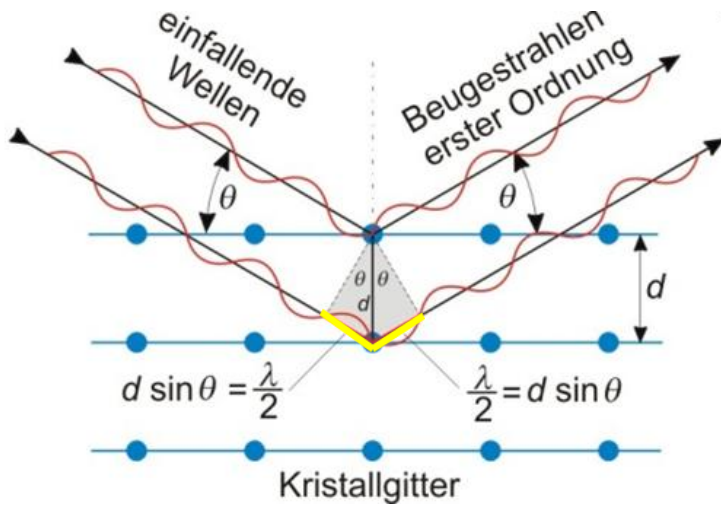
AFM-Bilder



Pentacen Molekül



Röntgendiffraktion

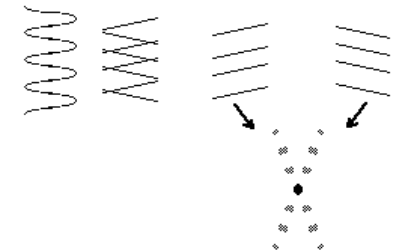
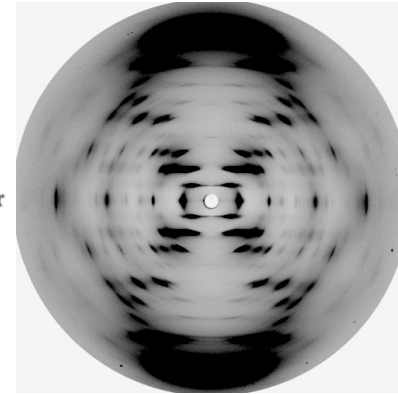
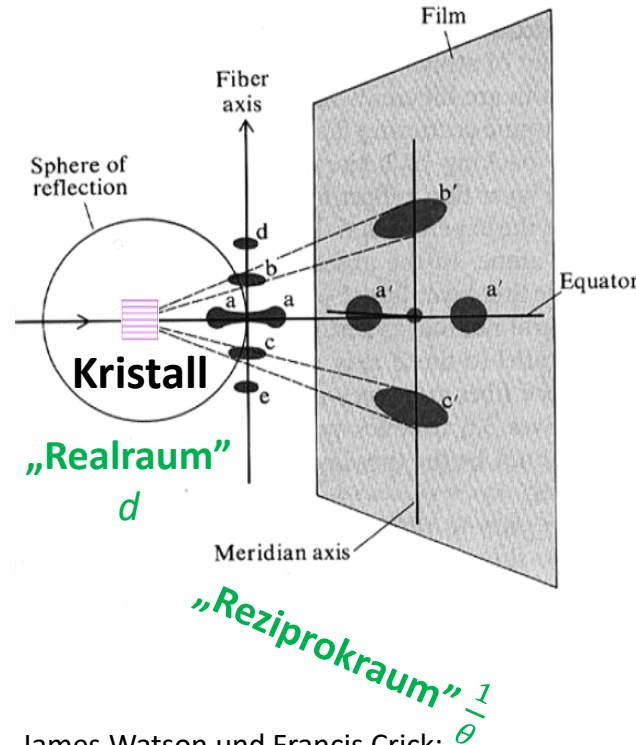


Bragg-Gleichung:
 $2d \cdot \sin \theta = k \cdot \lambda$

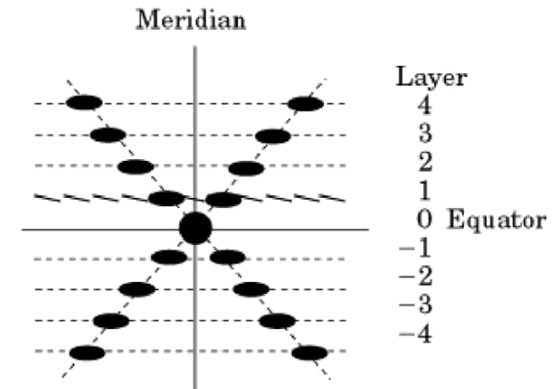
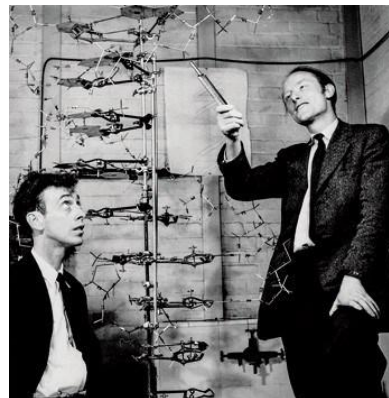
d : Gitterabstand
 θ : Beugungswinkel
 λ : Wellenlänge

$$d \sim \frac{1}{\theta}$$

**strukturspezifische Information
 im Bereich von 0,01-0,1 nm**



James Watson und Francis Crick:
 Doppelhelix-Struktur der DNA



Hausaufgaben

Aufgabensammlung

10.1-3, 10.9, 10.10

Feedback