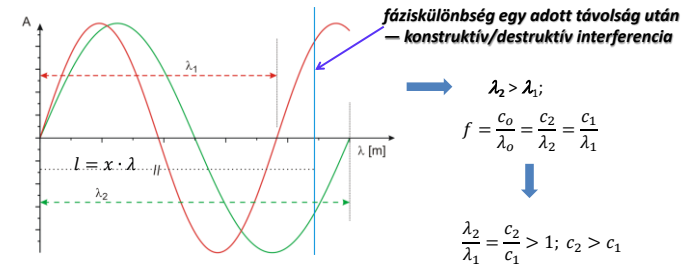


**Biomolekuláris szerkezet.  
Diffrakció, röntgenkristallográfia,  
fény- és elektronmikroszkópia.  
Tömegspektrometria, CD.**

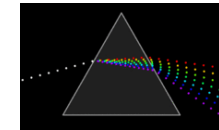


$$c_2 > c_1 \Rightarrow n_m = \frac{c_0}{c_m}$$

$$n_{m,1} = \frac{c_0}{c_{m,1}}; n_{m,2} = \frac{c_0}{c_{m,2}}$$

$$c_m = f(\nu) \quad n_m(\nu) = \frac{c_0}{c_m(\nu)}$$

**Diszperzió:** egy fizikai mennyiség függése a frekvenciától (hullámhossztól)



Diszperzió

### A fény (elektromágneses hullámok) fizikai tulajdonságai

Intenzitás  $\sim A^2$  (E,B) — hullám természet;  
fázis —  $\varphi$  — hullám természet;  
frekvencia —  $f$  or  $\nu$  — hullám természet;  
egyetlen foton energiája  $\varepsilon = h \cdot f$  — részecske természet;

Fénysebesség —  $c$  ( $c_{\text{vacuum}} \sim 3.0 \cdot 10^8 \text{ m/s.}$ )

- törésmutató:  $n = \frac{c_{\text{vacuum}}}{c_{\text{medium}}}$  — mennyivel "lassúbb" a fény egy közegben, mint a vákumban

**energiamegmaradás** törvénye:  $\varepsilon_{\text{light}} = h \cdot f = \frac{c_{\text{vacuum}}}{\lambda_{\text{vacuum}}} = \frac{c_{\text{medium}}}{\lambda_{\text{medium}}}$

$$n = \frac{c_{\text{vacuum}}}{c_{\text{medium}}} = \frac{\lambda_{\text{vacuum}}}{\lambda_{\text{medium}}}$$

$$n_{21} = \frac{c_2}{c_1} = \frac{\lambda_2}{\lambda_1} \text{ következmény: ha } c_2 > c_1 \text{ then } \lambda_2 > \lambda_1;$$

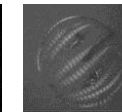
Polarizált fény — megfigyelések



polarizálatlan

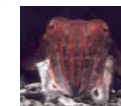


polarizált

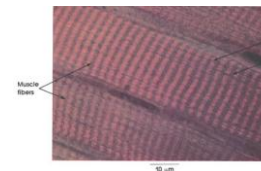


kombinált

ctenophore plankton.



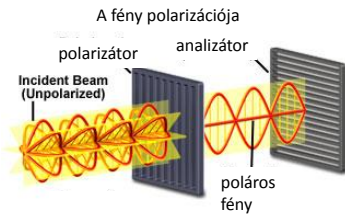
tintahal poláros fényben



harántcsíkolt izom polarizációs mikr. felvétel

A csikolat megjelenése éppen ellentétes a normál mikroszkópos képhez képest

### A poláros fény



Polarized Light Microscope Configuration

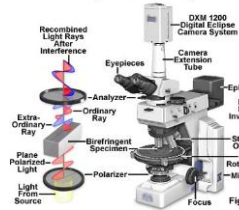
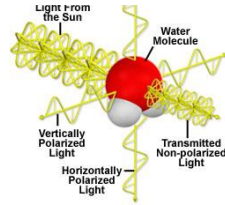


Figure 1

### A napfény polarizációja szóródás révén



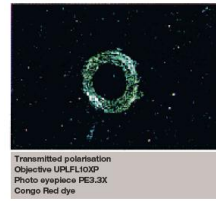
a polarizációs mikroszkóp felépítése

1-3 Renal vein with deposited amyloid (brightfield image)



Transmitted brightfield  
Objective UPLFL10-xP  
Photo eyepiece PE3.3 x  
Congo red dye

1-4 Renal vein with deposited amyloids (polarised light image)



Transmitted polarisation  
Objective UPLFL10-xP  
Photo eyepiece PE3.3X  
Congo red dye

keresztezett polarizátor és analízátor !

### A.) reflexiós polarizáció

#### Brewster's Angle

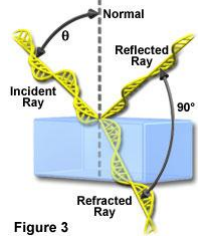


Figure 3

a reflektált sugár teljesen polarizált, ha a beesési szög = Brewster-szöggel

### B.) kettőtörő kristály



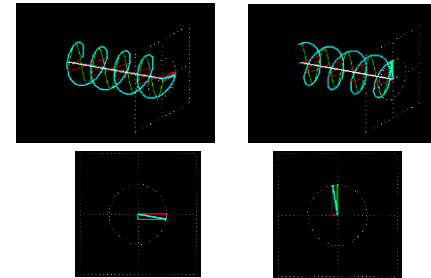
néhány kristályban, anyagban:  
 $c_m = f$  (polarizációs sík)

erre a polarizációs irányú fényre ez az irány gyorsabb terjedést tesz lehetővé

**Optikai kettőtörés:** a törésmutató ( $\sim$  fénysebesség) függ a lineárisan poláros fény polarizációs síkjától

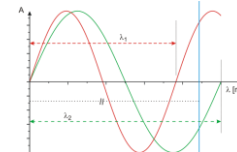
**Fermat-elv:** (a legrövidebb idő elve) a fény, két pont között mindig a legrövidebb időnek megfelelően terjed.

### Cirkulárisan poláros fény (bal, jobb)



Néhány anyagban (kiralis rdsz.):  
 $c_m = f$  (fény cirkuláris polarizációs irányától; L/D)

**cirkuláris kettőtörés:** a törésmutató ( $\sim$  fénysebesség) függ a cirkuláris polarizációs iránytól



**Dichroizmus**

- 1.) Egy adott hullámhossz(tartomány) vagy áthalad, vagy teljesen reflektálódik egy anyag felületéről (dikroikus tükrök)
- 2.) A különböző polarizációs állapotú fényhullámok az anyagon áthaladva különböző mértékben abszorbeálódnak

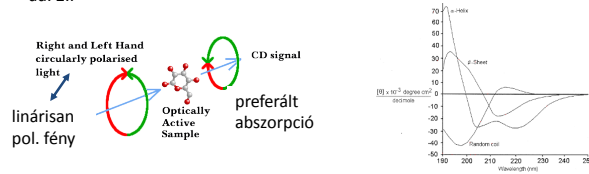
ad. 1.:



dikroikus szűrők (pl. fluor. mikroszk.) sugárostóként működhetnek

a visszavert fény színe

ad. 2.:



lineáris-, cirkuláris dikroizmus

- lineáris — az egyik síkban polarizált fényt a közeg jobban elnyeli;
- cirkuláris — az egyik cirkulárisan poláros fény jobban elnyelődik (CD)

**Emlékeztető:**

**Diszperzió:** egy fizikai tulajdonság frekvencia-függése.

CD-diszperzió vagy optikai rotációs diszperzió (ORD) — módszer a molekulák bizonyos szerkezetének vizsgálatára (konfiguráció, másodlagos szerkezet, királitás)

**Összefoglalás**

$$c_m = f(\nu, \text{polarizációs sík}(\nu), \text{polarizációs irány}(L.v.D.)(\nu))$$

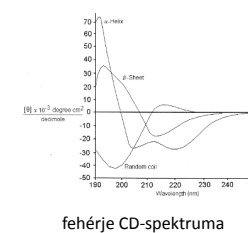
refraktométer

polarizációs mikroszk., polariméter, CD(ORD)

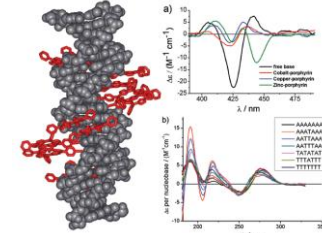
**Cirkuláris dikroizmus (CD) — módszer a biológiai molekulák vizsgálatára**

**Elv:** hullámhossz-függő cirkuláris dikroizmus

- ✓ a jobbra-, balra cirkulárisan poláros fény elnyelése különbözik a közegben;
- ÉS
- ✓ függ a frekvenciától (hullámhossztól) is



fehérje CD-spektruma



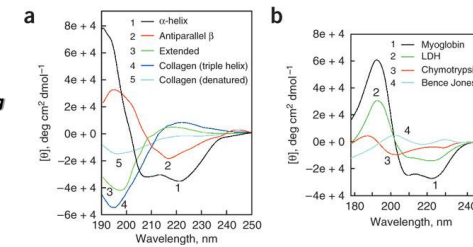
DNS CD-spektruma

**Mi a CD-spektrum?**

x: hullámhossz vagy frekvencia

y: a molaris extinkciós együttható különbsége a két ellentétesen cirkuláris polarizált fény között (vagy azzal arányos forgatóképesség)

**Hogyan határozzuk meg a másodlagos szerkezetet?**



**A másodlagos szerkezetek****fehérjéknél:**

- ✓  $\alpha$ -helikális
- ✓  $\beta$ -redő
- ✓  $\beta$ -fordulat (turn)
- ✓ random coil

Elmélet: a jel amplitúdója adott hullámhosszon a négy szerkezet járulékaik összege

**Feladat:**

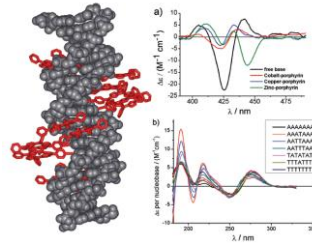
- 1. a lehetséges négy különböző szerkezet spektrumainak felvétele;
- 2. ezeknek a spektrumoknak a megfelelő súlyfaktorokkal való összegzése, hogy a vizsgált spektrum amplitúdóit előállítsuk

**Eredmény:**

a másodlagos szerkezet különböző járulékaik meghatározása = a súlyfaktorok megadása

**DNS másodlagos szerkezetek:**

- A-DNA
- B-DNA
- Z-DNA



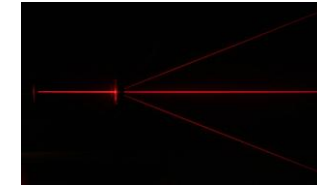
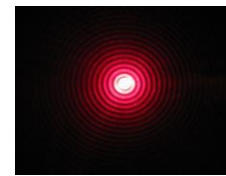
DNS CD-spektruma

**Mi a diffrakció?**

Richard Feynman said that:

"no-one has ever been able to define the difference between interference and diffraction satisfactorily. It is just a question of usage, and there is no specific, important physical difference between them."

**He suggested that when there are only a few sources, say two, we call it interference, (kettős rés), but with a large number of sources, the process be labeled diffraction.**

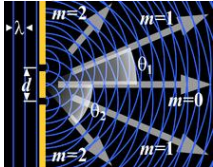
**Diffrakció, mint képalkotó módszer**

**Kép: általában kétdimenziós információt hordozó, tároló eszköz**

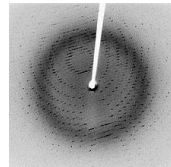
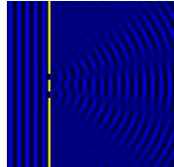
**Nincs kép, ha nincsen információ;**

**Ha egy fizikai mennyiség nem hordoz információt, nem keletkezik kép**

**DE: ha egy hullám nem hordoz információt, akkor még szükséges lehet a képalkotáshoz (pl. a nulladrendű maximum nem hordoz információt egy rácstről, de ha kirekesztjük, pl. sötétlátóteres mikroszkóp, nem keletkezik kép: nincs feloldás)**



kettős rés

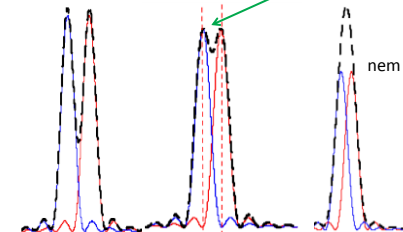


Rtg. diffrakciós kép

Rayleigh kritérium : Két fényforrás legalább az első sötét sávnak megfelelő átmérő távolságban kell legyen



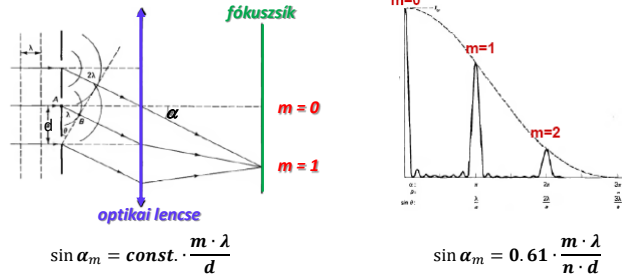
$$x_{\min} = d = 0.61 \cdot \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha}$$



nem feloldható

**Diffrakciós rács egyenlete**

A rácsot alkotó rések száma igen nagy (pl. sejt a mikroszkópban)



összefüggés a minimálisan feloldható távolság  $d$  és a hullámhossz  $\lambda$  között;  
a nulladrendű sugár nem hordoz információt a tárgyról

**az optikailag minimálisan feloldható távolság  $\sim 200 \text{ nm}$**

**Mi a rács?**

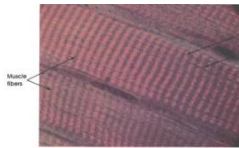
A rács egy olyan struktúra, amiben egy fizikai tulajdonság periodikusan ismétlődik.



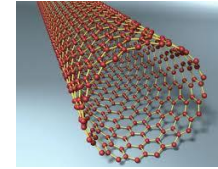
pl.: optikai eszközök



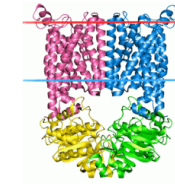
fizikai tulajdonságok:  
áteresztőképesség (transzmissziós rács);  
reflexióképesség (reflexiós rács);  
törésmutató (fázisrács);



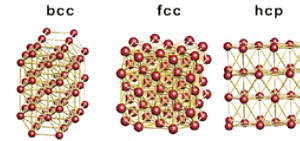
polarizáció foka

**Feloldás 200 nm alatt?**

szén nanocsövek



ATP-binding cassette  
transporters (ABC-transporter)



különböző elemi kristályrácsok (Fe-kristály módosulatok)

**Hogyan csökkentjük a hullámhosszat? I. Módszer**

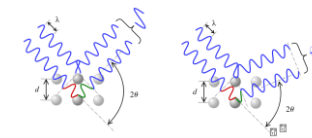
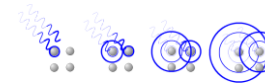
$$d_{\min} \approx \frac{m \cdot \lambda}{\sin \alpha}$$

Legyen a hullámhossz a pm-tartományban?

- Rtg. — az optikai tartomány alatt
- a diffrakciós szög akár sokkal kisebb is lehet ( $< 1 \text{ deg.}$ )
- a képet valami módon rekonstruálni kell (nincs lencse?!)
- feloldás határ kisebb, közel nm-es tartomány

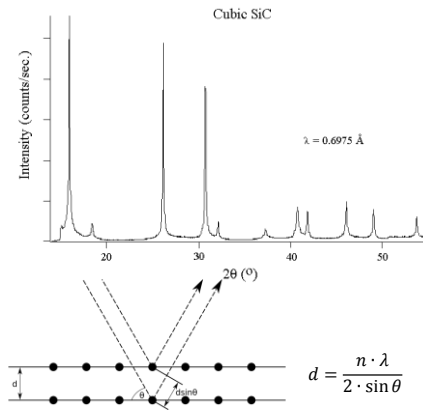
A rács fizikai tulajdonsága — reflexió:

- ✓ elektronsűrűség alapján
- ✓ magokról

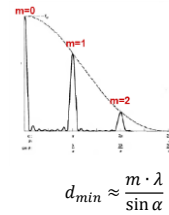


konstruktív

destruktív



Emlék: optikai rácsnál

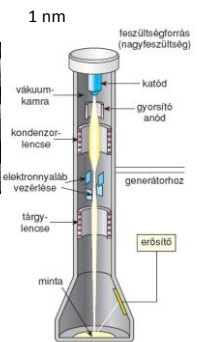
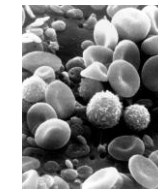
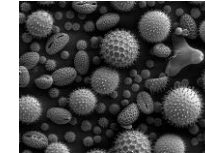
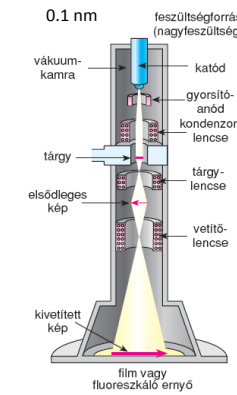


### Csökkentsük a hullámhosszat? II. Módszer

em.sugárzás helyett. elektronsugár  
feloldási határ ~ 50pm

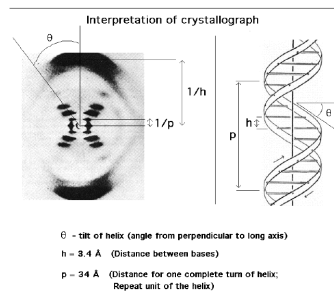
$$\lambda = \frac{h}{m_e v_e}$$

hullámhossz ~ pm  
gyorsító feszültség 40-400 keV

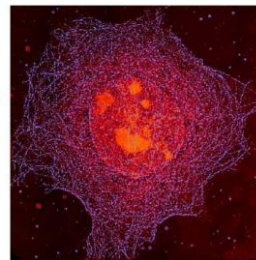


X-ray diffraction pattern from B form of DNA

After Glusker & Trueblood, *Crystal Structure Analysis: A Primer*, Oxford Univ. Press, New York, ©1972, p. 137, Fig. 39(b); found in Tinoco, Sauer & Wang, *Physical Chemistry*, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J., ©1978.



Rtg. mikroszkópia!

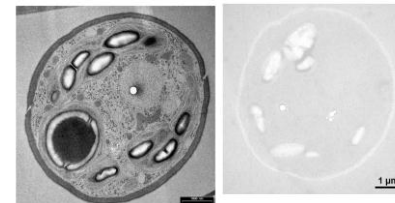


### Kontrasztosítás

Az elektronok abszorpciója, szóródás alapján  
(Diffrakciós és fázis kontraszt)

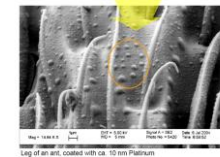
Egyikkel sem rendelkezik a biológiai szövet

TEM



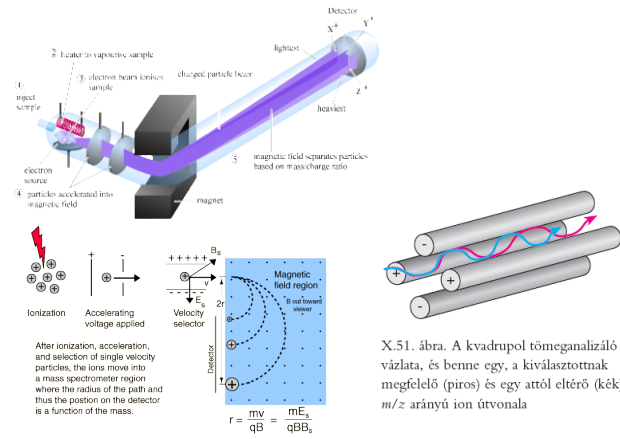
nehézfémekkel való kezelés (U, Pb, Os)

SEM



fémgőzölés

## Tömeg-spektrometria



Köszönöm a figyelmet!

