

Hiszem, ha látom...  
kutatók éjszakája 2012

# **Kétfoton gerjesztésű pásztázó fluoreszcencia mikroszkóp**

**Two-photon Excited Fluorescence Scanning Microscope**  
**Multiphoton Microscope**  
**Two-photon Microscope**

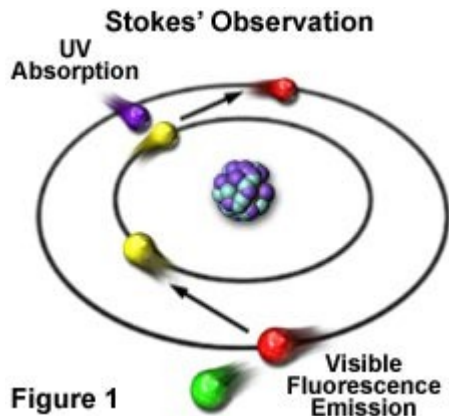
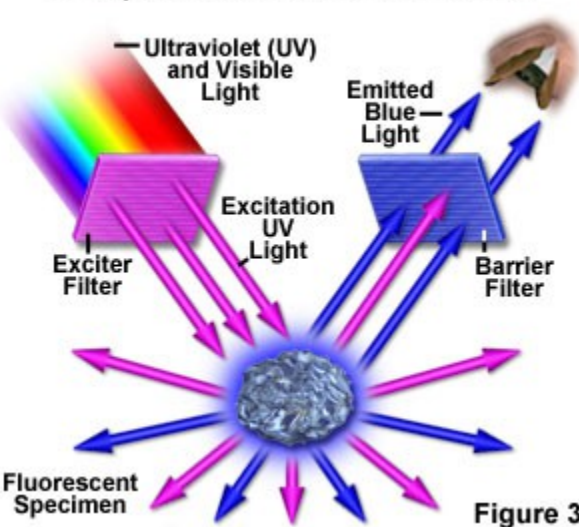
# Fluoreszcencia

Gerjesztés, abszorpció

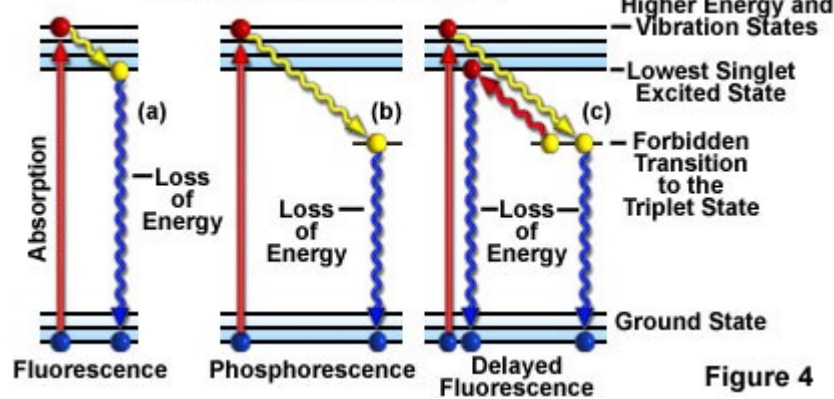
Energiavesztés, valamennyi idő eltelik

Fénykibocsátás, emisszió

Principle of Excitation and Emission



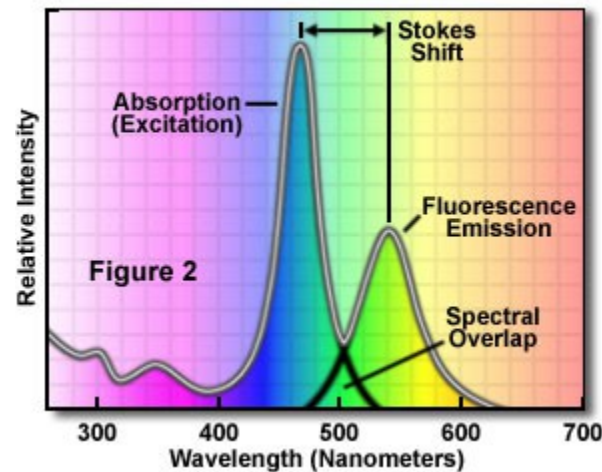
Jablonski Energy Diagrams



Energia diagramm:  
gerjesztett állapot

alapállapot

Excitation and Emission Spectral Profiles



Spektrum:  
Elnyelés és  
emisszió az energia,  
vagy hullámhossz  
függvényében

# Két-foton gerjesztés

Gerjesztés

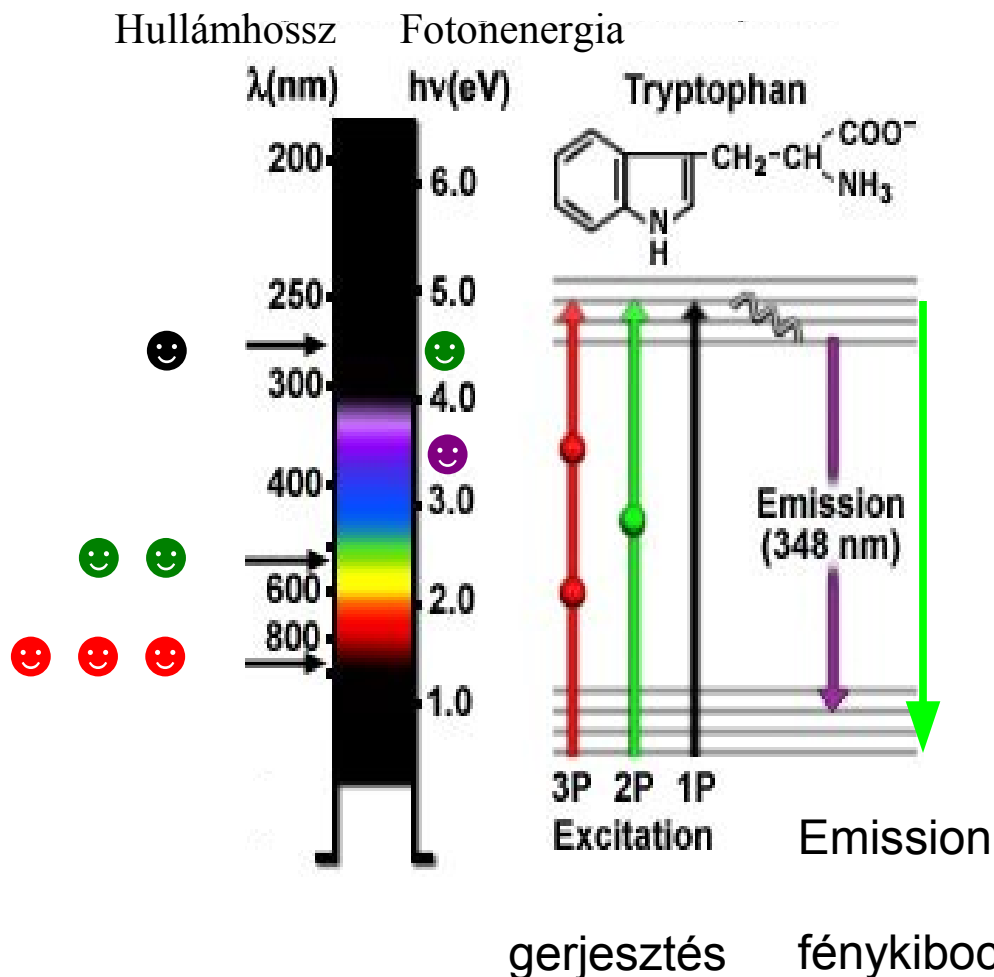
2 foton: kicsi a valószínűsége

Fluoreszcencia

- kis idő múlva
- széles szín-tartományban
- 1,2,3 fotonos gerjesztésnél is ugyanolyan

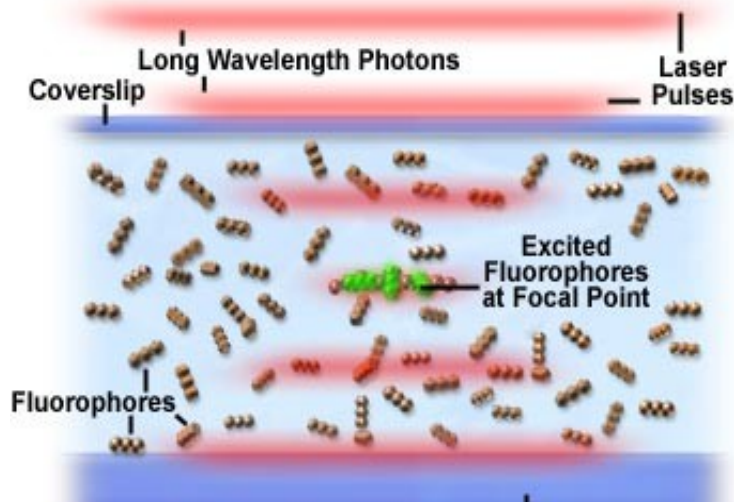
Másodharmonikus-keltés

- azonnal
- egyszínű
- gerjesztő hullámhossz fele



# Pásztázó Fluoreszcencia Mikroszkóp

Fluorophore Excitation in Multiphoton Microscopy



optikai  
szeletelés

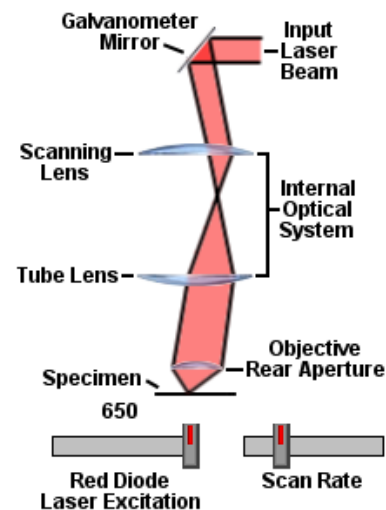
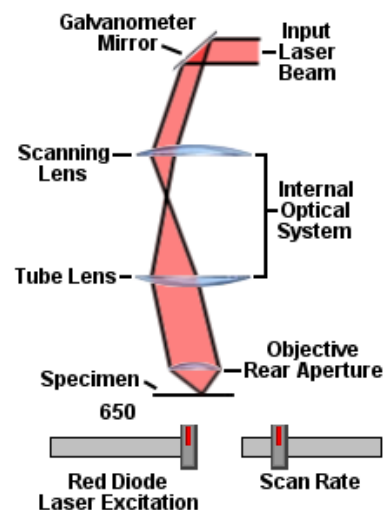
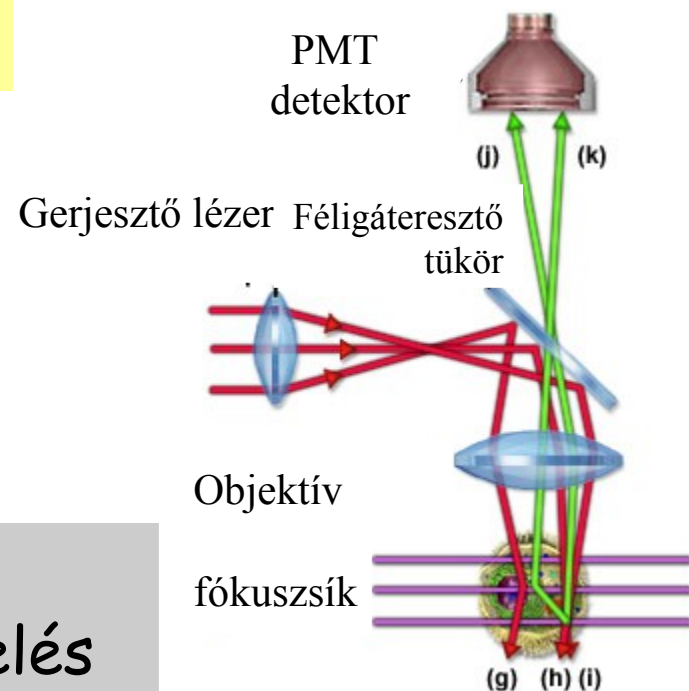
Fókusz-térfogat:

0,5 mikrométer átmérő

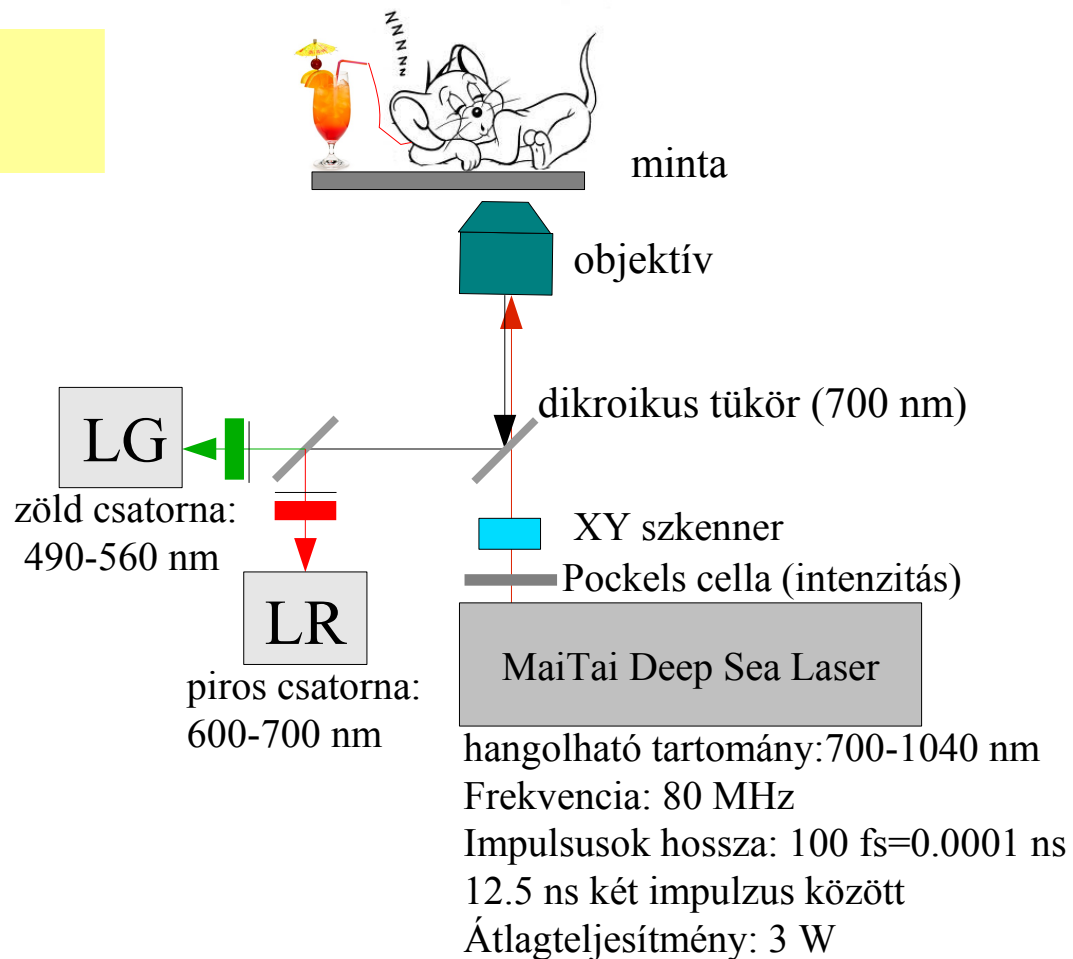
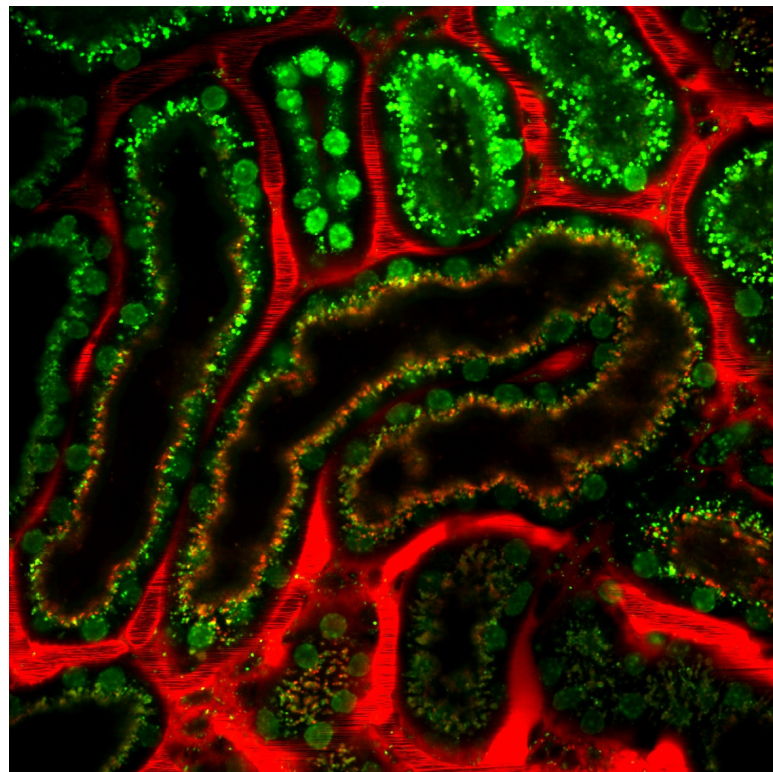
1 femtoliter térfogat



Ezzel a ponttal  
pásztázza végig a mintát  
soronként



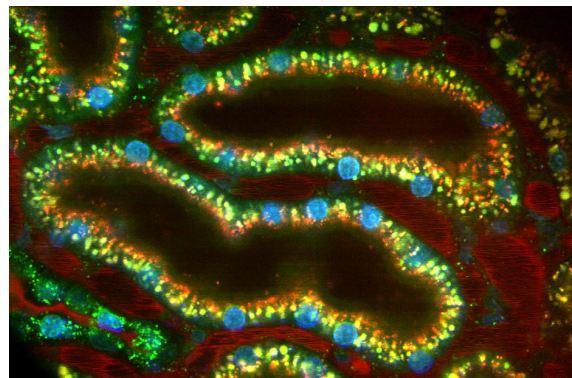
# IN VIVO mérések



Zöld autofluoreszcencia (főleg NADH)

Festékkoktél intravénásan:

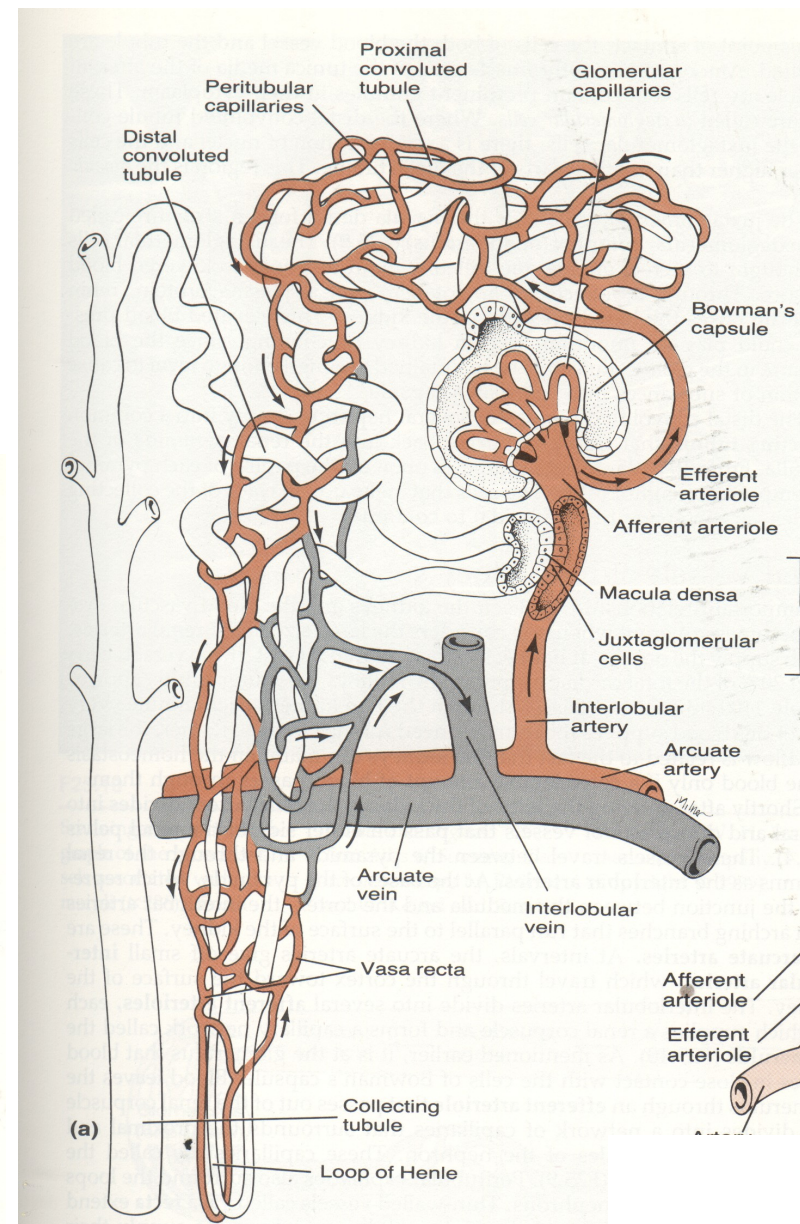
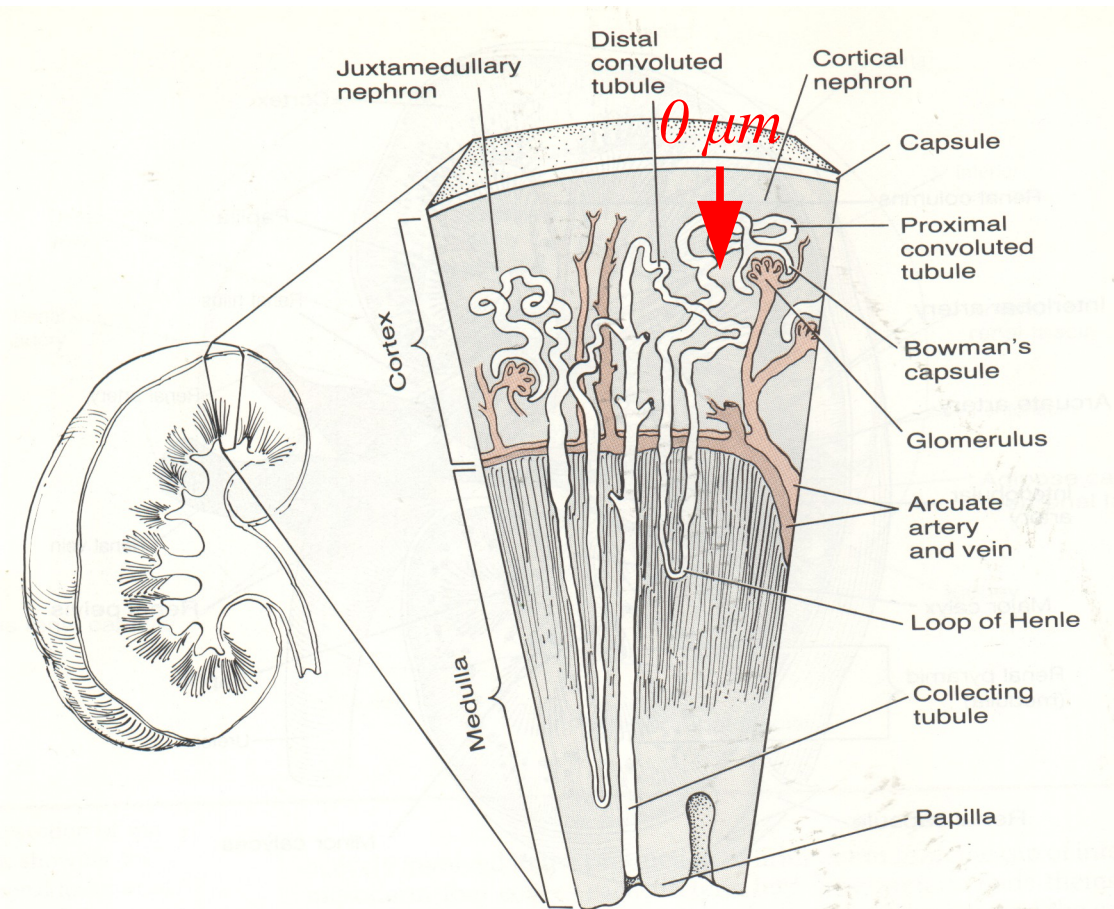
Piros 70 kDa rhodamin dextrane (erek)  
Sárga: Lucifer Yellow (sejtközi tér)  
Kék: Hoechst (sejtmagok)





# A vese

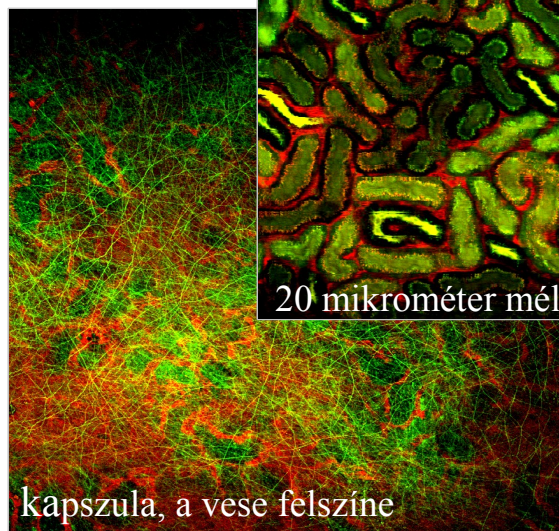
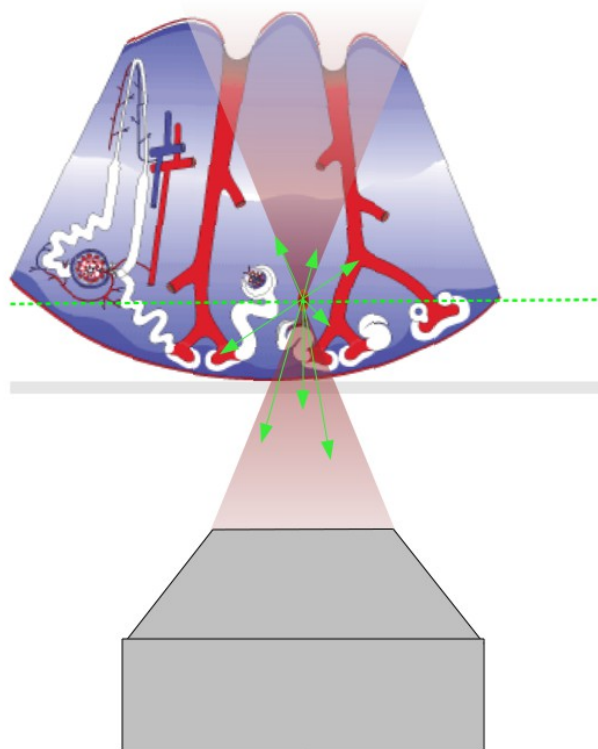
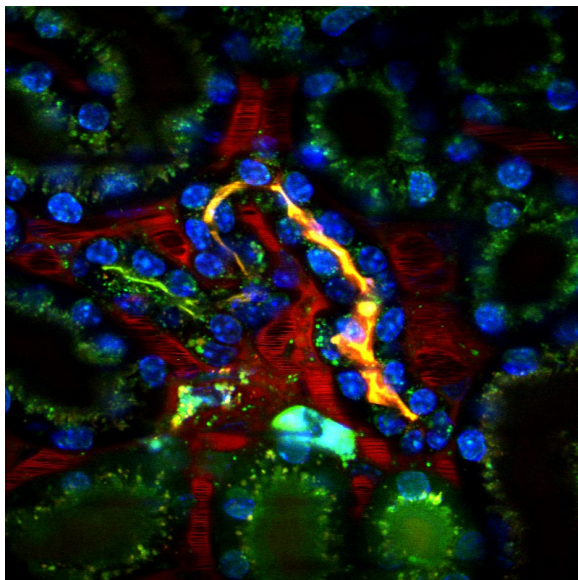
A belsejét szeretnénk látni  
működés közben



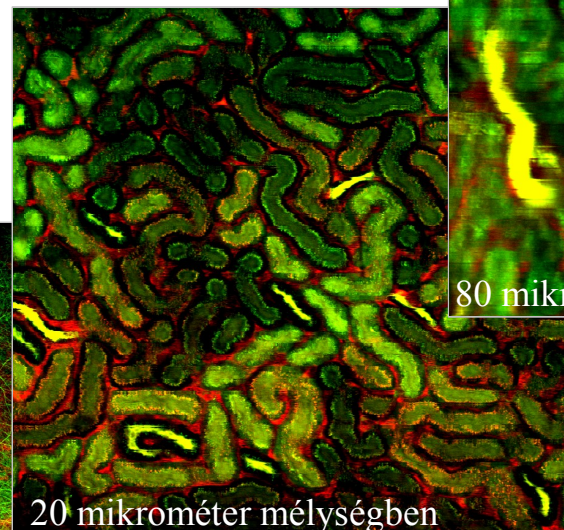
Erek és csövek  
sűrű tömege!



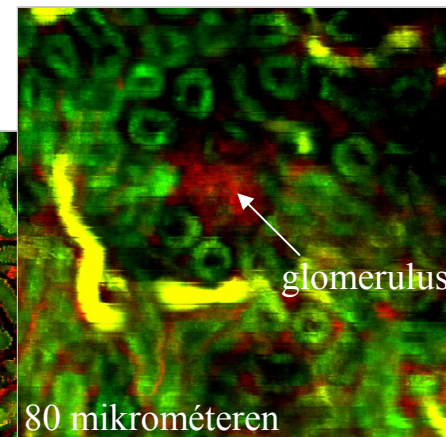
Mit hiszek, ha ezt látom?



kapszula, a vese felszíne



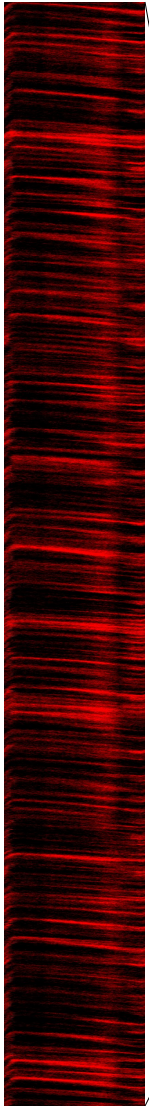
20 mikrométer mélységben



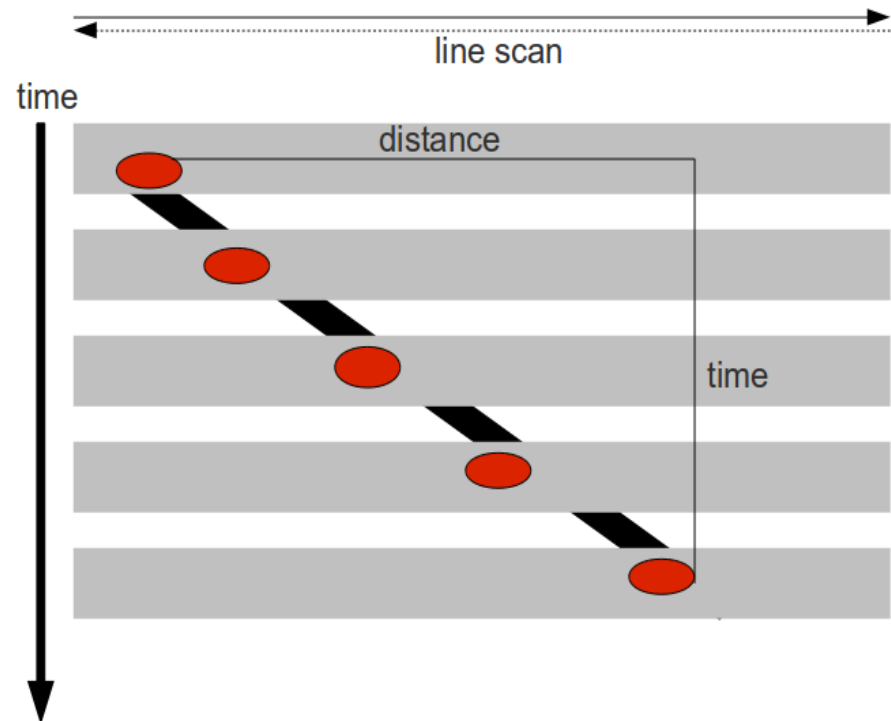
glomerulus

80 mikrométeren

# A véráramlás sebessége



A vörös vérsejtek feketék  
Vonal menti pásztázás  
1 ms/vonal, 0.05  $\mu\text{m}$ /képpont  
 $V \sim 1\text{-}2 \text{ mm/s}$ ,





További olvasnivaló:

[http://en.wikipedia.org/wiki/Two-photon\\_excitation\\_microscopy](http://en.wikipedia.org/wiki/Two-photon_excitation_microscopy)

[http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/  
fluorescence/multiphoton/multiphotonintro.html](http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/fluorescence/multiphoton/multiphotonintro.html)