

LUMINESZCENCIA

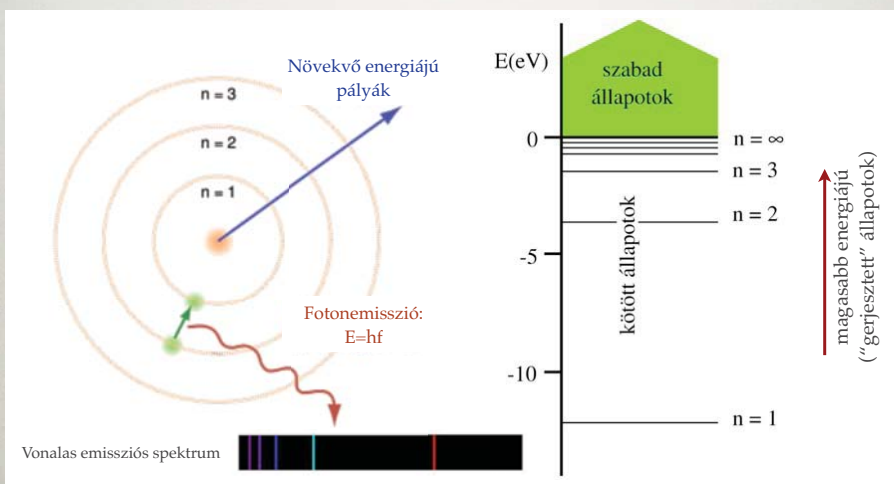
ALAPOK, TULAJDONSÁGOK

LUMINESZCENCIA

- Molekula energiája
- Spinállapotok
- Lumineszcencia típusai
- Lumineszcencia átmenetei
- A lumineszcencia paraméterei
- A lumineszcencia mérése
- Polarizáció, anizotrópia
- Alkalmazások, néhány specialitás

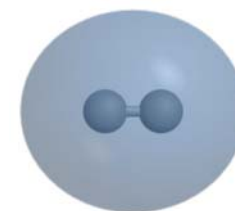
ATOMSZERKEZET

A testek a hőmérsékleti sugárzáson felül képesek fényt kibocsátani - lumineszcencia



MOLEKULASZERKEZET

Molekula: kovalens kötéssel összekapcsolt atomok
Legegyszerűbb eset: kétatomos molekula (pl., hidrogénmolekula)

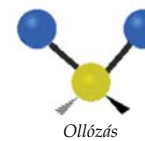
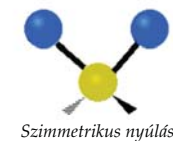


A molekulák **vibrációs** és **rotációs** mozgásokat végeznek!

Vibráció: kovalens kötés *mentén* történő periodikus mozgás

Rotáció: kovalens kötés *tengelye körüli* periodikus mozgás

Példák a vibrációs mozgásra háromatomos (metilén) csoportban ($-\text{CH}_2-$):



MOLEKULA ENERGIÁJA



Max Born
(1882-1970)



J. Robert Oppenheimer
(1904-1967)

Born-Oppenheimer - közelítés:

$$E_{total} = E_e + E_v + E_r$$

Fontos megjegyzések:

Energia állapotok egymástól függetlenek (csatolás elhanyagolható)

Állapotok energianívói kvantáltak

Átmenetek energia "csomag" elnyelésével/kibocsátásával járnak

Energiaszintek közötti különbségek nagyságrendje különbözik:

$$E_e \sim 100 \times E_v \sim 100 \times E_r$$

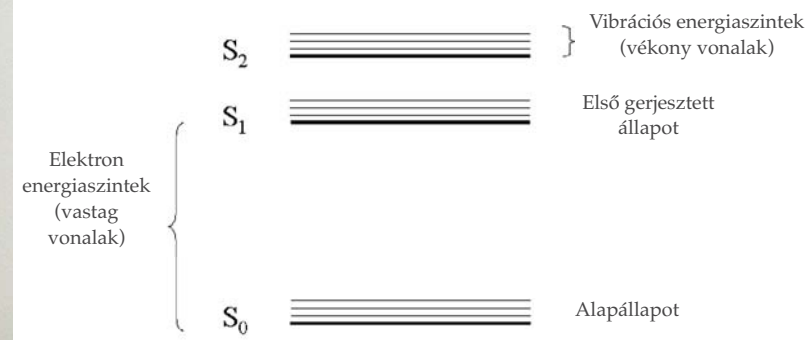
$$\sim 3 \times 10^{-19} \text{ J } (\sim 2 \text{ eV}) > \sim 3 \times 10^{-21} \text{ J} > \sim 3 \times 10^{-23} \text{ J}$$

ENERGIA ÁLLAPOTOK ÁBRÁZOLÁSA

Jabłoński-féle termséma:
egy molekula elektronállapotait, és a közöttük
végbemenő átmeneteket (nyilakkal) mutatja



Alexander Jabłoński
(1898-1980)



SPINÁLLAPOTOK

Wolfgang Pauli
(1900-1958)



Pauli-elv:

- Minden kvantumállapotot csak egyetlen elektron tölthet be.
- Egy atomon belül nem létezhet két olyan elektron, amelyek mind a négy kvantumszáma megegyezik.



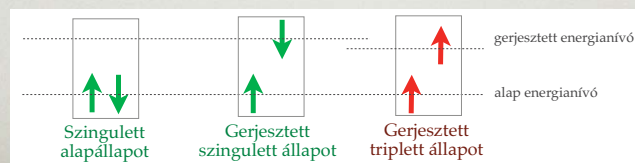
betöltött alhéj: spin párosítás
(ellentétes spinű elektronok párosodnak)

Szingulett és triplett állapotok:

az eredő spinállapothoz rendelt mágneses momentum orientációinak száma (mágneses térben) = $2S+1 = 1$ (szingulett) vagy 3 (triplett). (S = eredő spin, pl. betöltött alhéj esetén $(+1/2)+(-1/2) = 0$)

S: szingulett állapot: ellentétes spinű párosított elektronok, eredő spin (S) = 0, orientációk száma ($2S+1$) = 1.

T: triplett állapot: a molekulában azonos spinállapotú elektronok vannak, eredő spin = 1 (pl. $(+1/2)+(+1/2) = 1$), orientációk száma ($2S+1 = 2+1$) = 3.



LUMINESZCENCIA

Gerjesztett állapotból
fényemisszióval járó relaxáció

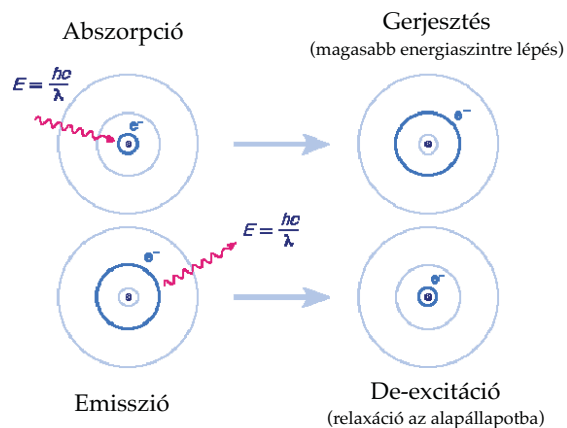
A hőmérsékleti sugárzáson felül
kibocsátott sugárzás

"Hideg fény"

Fluoreszcencia és foszforeszcencia

A LUMINESZCENCIA EGYSZERŰSÍTETT LÉPÉSEI

(Atomi rendszer!)

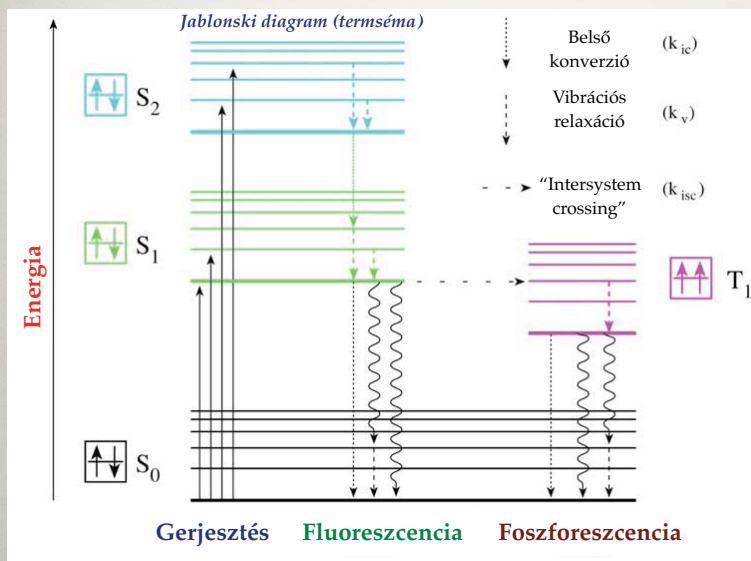


A LUMINESZCENCIA TÍPUSAI

Gerjesztés módja szerint	Lumineszcencia típusa
abszorpció	fotolumineszcencia
kémiai reakció	kemilumineszcencia, biolumineszcencia
termikusan aktivált ion-rekombináció	termolumineszcencia
töltés injekció	elektrolumineszcencia
nagyenergiájú radioaktív sugárzás	radiolumineszcencia
súrlódás	tribolumineszcencia
hanghullámok	szonolumineszcencia
Gerjesztett állapot szerint	Lumineszcencia típusa
első gerjesztett szingulett állapot	fluoreszcencia
legalsó (gerjesztet) triplett állapot	foszforeszcencia



A LUMINESZCENCIA FOLYAMATAI



Belső konverzió:
sugárzásmentes átmenet
elektron energia-
állapotok között (pl.
 $S_2 \rightarrow S_1$)

Vibrációs relaxáció: egy
adott elektron
energiaállapoton belüli
de-excitációs folyamat

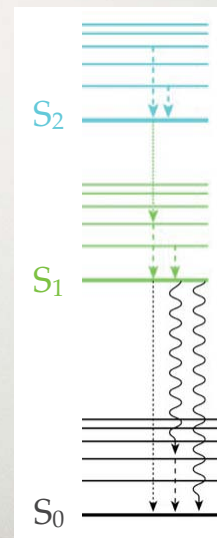
"Intersystem crossing":
rendszerek közötti,
spinátfordulással járó
átmenet (pl. $S_1 \rightarrow T_1$)

KASHA-SZABÁLY

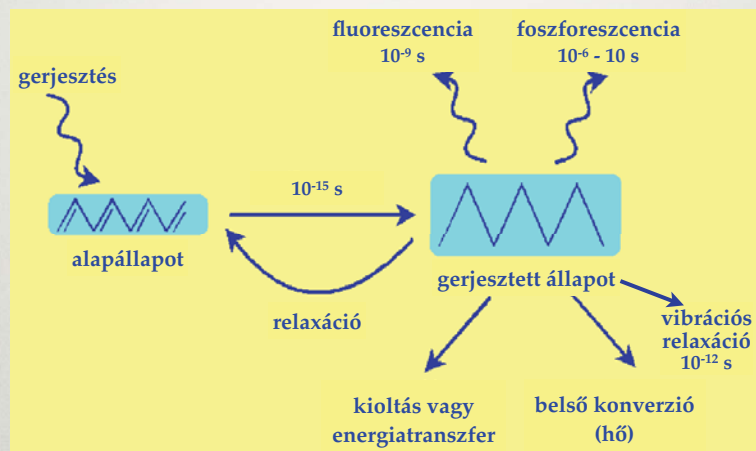
Fotonemisszió (fluoreszcencia vagy
foszforeszcencia) a legalacsonyabb
gerjesztett elektron-energiaállapot (S_1 ,
 T_1) legalacsonyabb vibrációs szintjéről
történő átmenet során lép fel.



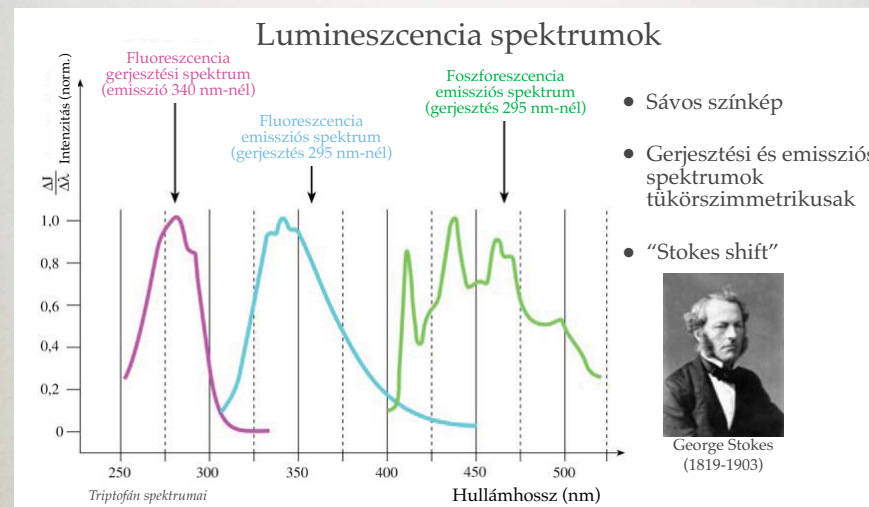
Michael Kasha (1920-)
Amerikai fizikus



AZ ÁTMENETEK SEBESSÉGE (IDŐSKÁLÁJA)



A LUMINESZCENCIA TULAJDONSÁGAI I.



Fluoreszcens festékmolekulák: "fluorofórok"

Fluorofórok célzott bekötésével nem fluoreszkáló molekulák is vizsgálhatóvá válnak ("fluoreszcens jelölés")

A LUMINESZCENCIA TULAJDONSÁGAI II.

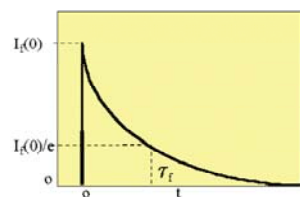
Kvantumhatásfok

$$\Phi = \frac{\text{emittált fotonok száma}}{\text{abszorbeált fotonok száma}} \leq 1$$

$$\Phi = \frac{k_f}{k_f + k_{ic} + k_{isc} + k_Q}$$

k_{nr} = nem sugárzásos átmenetek sebességi állandói

A gerjesztett állapot élettartama



$$\frac{dN}{dt} = -(k_f + k_{nr}) \cdot N$$

$$N = N_0 e^{-(k_f + k_{nr})t}$$

$$\tau = \frac{1}{k_f + k_{nr}}$$

N = gerjesztett állapotú molekulák száma

t = idő

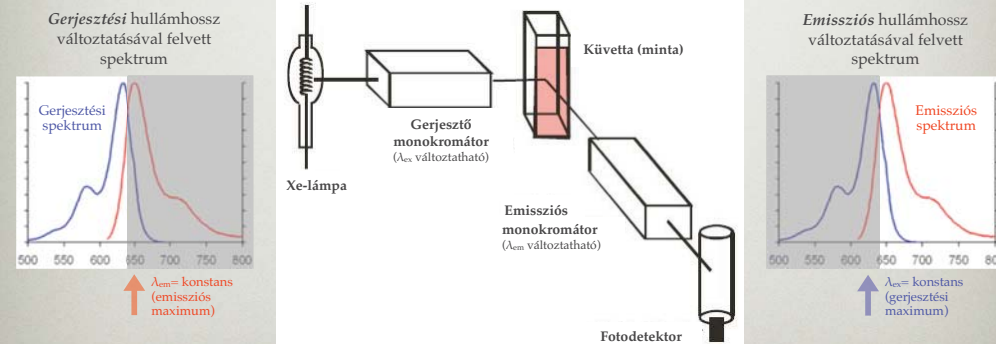
k_f = fluoreszcencia sebességi állandó

k_{nr} = nem-sugárzásos átmenetek sebességi állandója

τ = fluoreszcencia élettartam

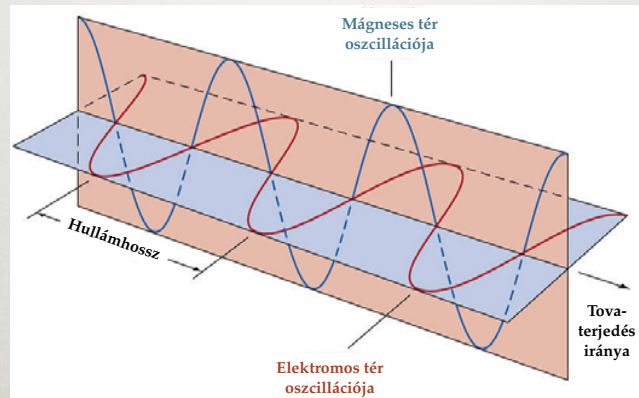
A FLUORESZCENCIA MÉRÉSE

Fluoreszcencia spektrométer (*"Steady-state"* spektrofluoriméter)

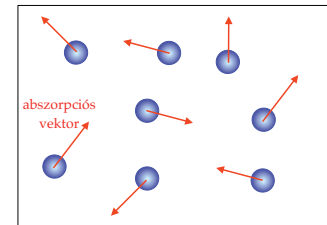


A FÉNY ELEKTROMÁGNESES HULLÁM → POLARIZÁLHATÓ

- Térben tovaterjedő elektromágneses zavar.
- Tranzverzális hullám.
- Ezért polarizálható.



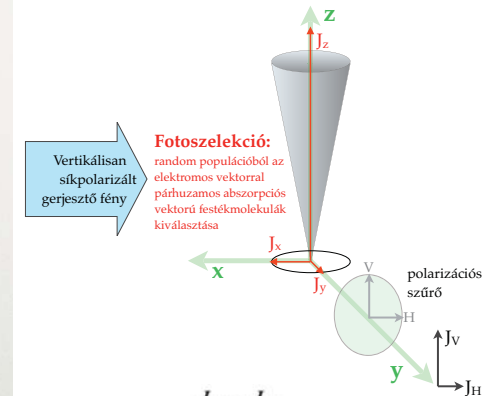
POLARIZÁCIÓ, ANIZOTRÓPIA



Fluorofórokhoz rendelhető **abszorpciós és emissziós vektor**: megszabja a foton abszorpció és emisszió valószínűségét.

Abszorpció maximális, ha az absz. vektor és a fénv. elektromos térvéktora párhuzamos.

Abszorpció képessége függ $\cos^2\alpha$ -tól (α az absz. vektor és a fénv. elektromos vektora közötti szög).



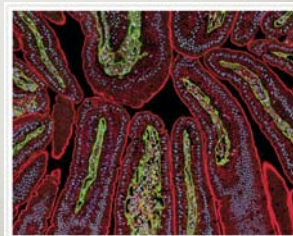
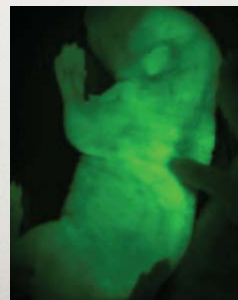
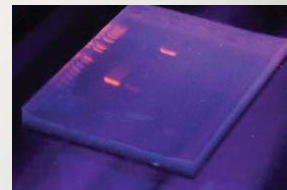
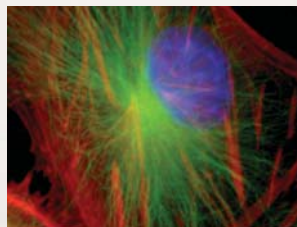
$$\text{Polarizáció: } p = \frac{J_{VV} - J_{VH}}{J_{VV} + J_{VH}}$$

$$\text{Anizotrópia: } r = \frac{J_{VV} - J_{VH}}{J_{VV} + 2J_{VH}}$$

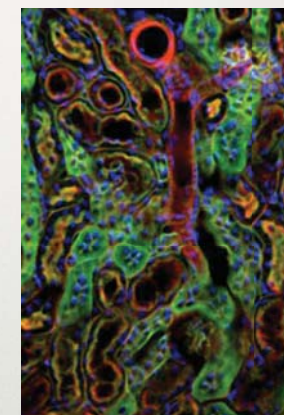
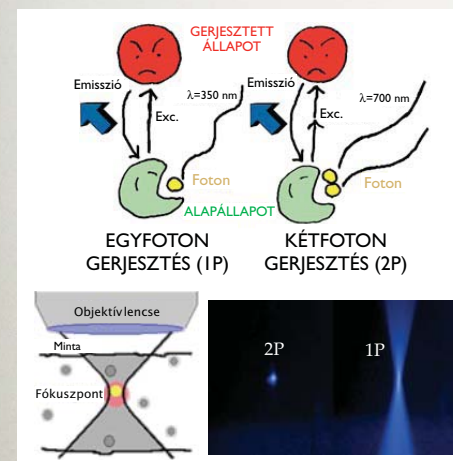
- additív mennyiség
- nevezőben a teljes gerjesztő intenzitás ($J_{VH} = J_{HV}$)

A FLUORESZCENCIA ORVOSI-BIOLÓGIAI ALKALMAZÁSAI

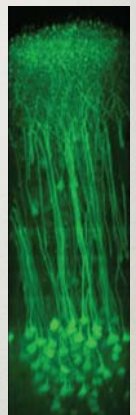
- Fluoreszcencia mikroszkópia
- DNS szekvenálás (lánc terminációs módszer)
- DNS festés (EtBr)
- DNS microarray technológia
- Immunfluoreszcencia
- Fluoreszcencia-aktivált sejt válogatás (FACS)
- Förster rezonancia energia transzfer (FRET)
- "Fluorescence recovery after photobleaching" (FRAP)
- Fluoreszcens fehérje-konjugációs technikák
- Kvantum pontok (quantm dots)



KÉT-FOTON FLUORESZCENCIA



Vesekéreg - tubuláris rendszer (vörös: ér)

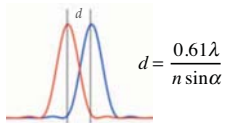


Agykérgi piramissejtek

SZUPERFELBONTÁSÚ MIKROSZKÓPIA

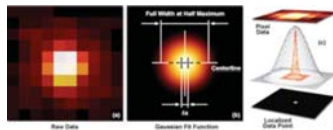
A feloldási problémát pozíciómeghatározási problémává alakítjuk

Feloldási probléma (Abbé-elv)

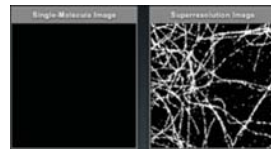


$$d = \frac{0.61\lambda}{n \sin \alpha}$$

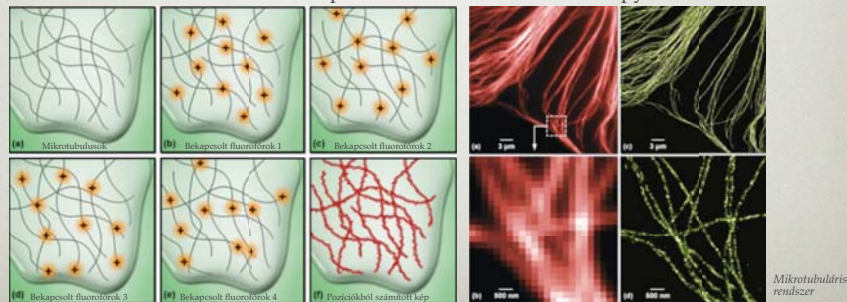
Pozíciómeghatározási probléma
(pontosság a fotonszámtól függ)



„Sztocasztikus” adatgyűjtés egyedi fluorofórokról



STORM: “stochastic optical reconstruction microscopy”



Adatgyűjtési
folyamat

Mikrotubuláris
rendszer

ÖSSZEFOGLALÁS

- A molekulaszervezet és energiaállapotok fontos szerepet játszanak a lumineszcenciában.
- A lumineszcencia molekuláris de-excitáció (relaxáció) melyet fénykibocsátás követ.
- A fluoreszcencia spektrumot a Stokes-féle eltolódás jellemzi.
- A kvantumhatásfok és fluoreszcencia élettartam fontos lumineszcencia paraméterek.