

MAKROMOLEKULÁK SZERKEZETVIZSGÁLÓ MÓDSZEREI

LUMINESZCENCIÁS TECHNIKÁK

KELLERMAYER MIKLÓS

LUMINESZCENCIA

- 📌 Gerjesztett állapotból fényemisszióval járó relaxáció
- 📌 A hőmérsékleti sugárzáson felül kibocsátott sugárzás
- 📌 “Hideg fény”
- 📌 Fluoreszcencia és foszforeszcencia

LUMINESZCENCIA MINDENÜTT



Fotolumineszcencia

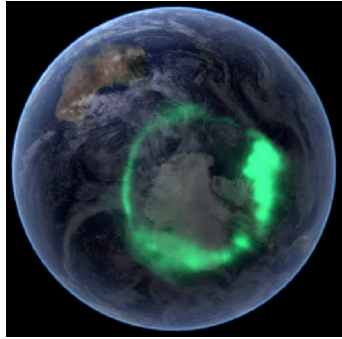
LUMINESZCENCIA MINDENÜTT



Radiolumineszcencia



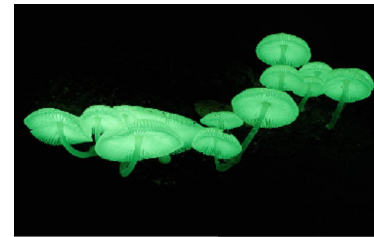
LUMINESZCENCIA MINDENÜTT



Radiolumineszcencia
Aurora borealis (sarki fény)



LUMINESZCENCIA MINDENÜTT

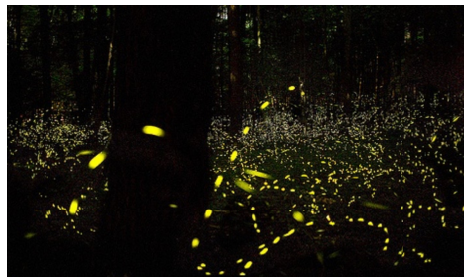


Biolumineszcencia

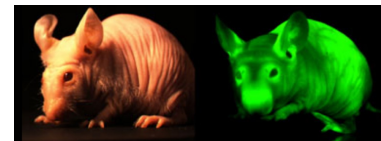
LUMINESZCENCIA MINDENÜTT



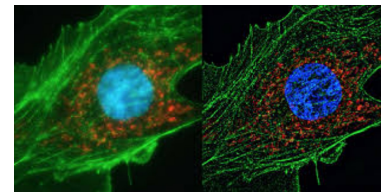
Biolumineszcencia
Szentjánosbogár



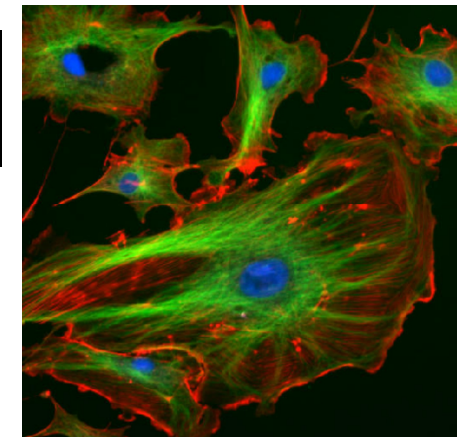
LUMINESZCENCIA MINDENÜTT



GFP-egér



Szuperrezolúciós mikroszkópia
(Nobel-díj 2014)



Epifluoreszcencia mikroszkópia
(citoszkeletális rendszer)

Fluoreszcencia

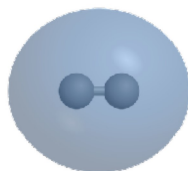
A LUMINESZCENCIA TÍPUSAI

Gerjesztés <i>módja</i> 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 <i>állapot</i> szerint	Lumineszcencia típusa
első gerjesztett szingulett állapot	fluoreszcencia
legalsó (gerjesztet) triplett állapot	foszforeszcencia

EGY GERJESZTETT MOLEKULA EMISSZIÓJA BONYOLULTABB...

...MERT **ENERGIANÍVÓI** ÖSSZETETTEK.

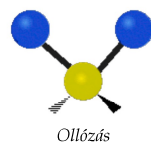
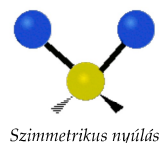
Molekula: kovalens kötéssel összekapcsolt atomok
Legegyszerűbb eset: kétatomos molekula (pl., hidrogénmolekula)



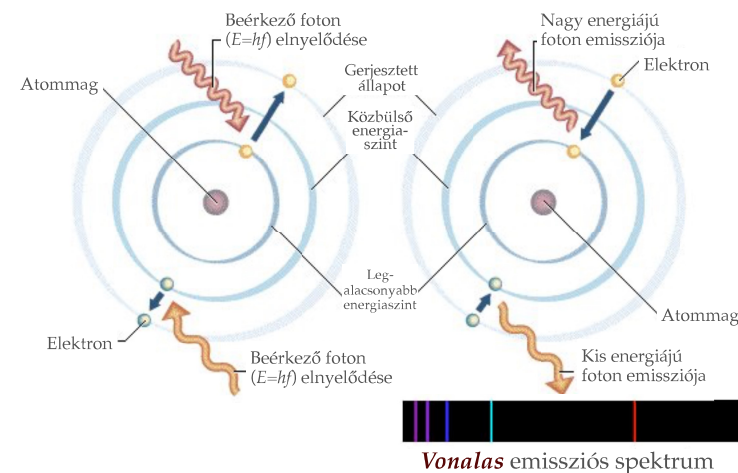
A molekulák **vibrációs** és **rotációs** mozgásokat végeznek!

Vibráció: kovalens kötés *mentén* történő periodikus mozgás
Rotáció: kovalens kötés *tengelye körüli* periodikus mozgás

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



FÉNYEMISSZÓ GERJESZTETT ATOM ÁLTAL



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 "energiacsomag" (kvantum) elnyelésével/kibocsátásával járnak.
- Energiaszintek közötti különbségek nagyságrendje különbözik:

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

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

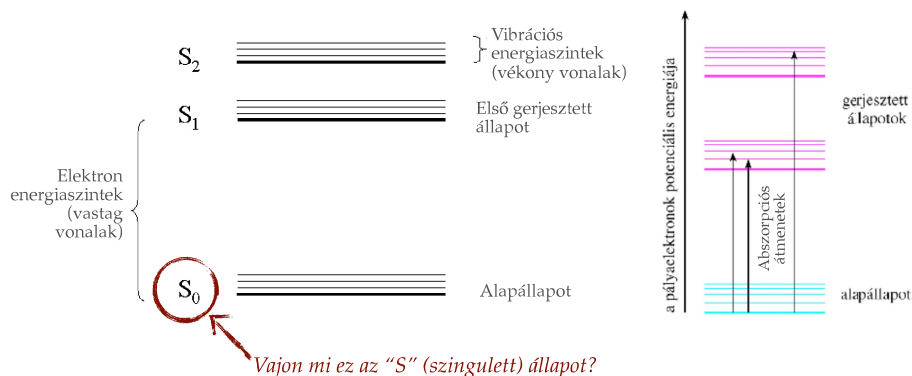
("Ökölszabály": *ultraibolya* > *látható* > *infravörös*)

ENERGIA ÁLLAPOTOK ÁBRÁZOLÁSA

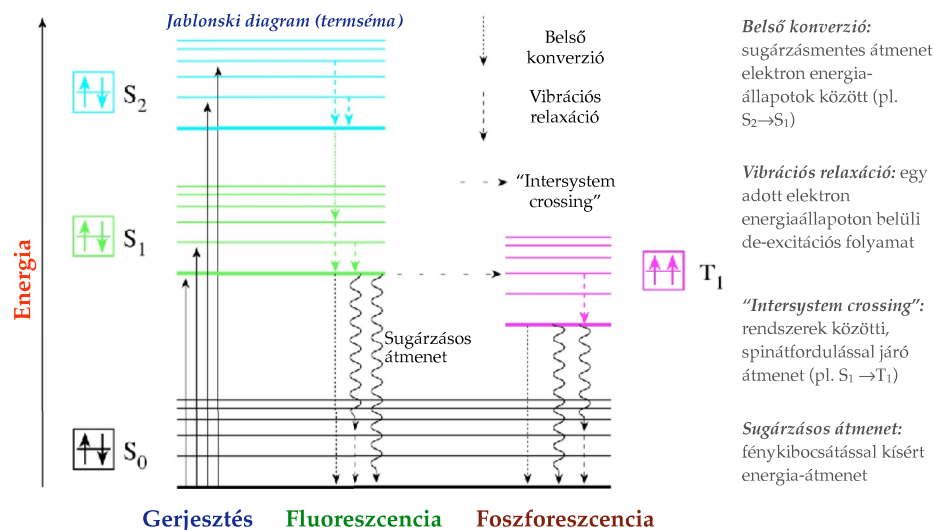
Jablonski-féle termséma:
egy molekula elektronállapotait, és a közöttük
végbemenő átmeneteket (nyilakkal) mutatja



Alexander Jablonski
(1898-1980)



A LUMINESZCENCIA FOLYAMATAI



SPINÁLLAPOTOK



Wolfgang Pauli
(1900-1958)

Pauli-elv:

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



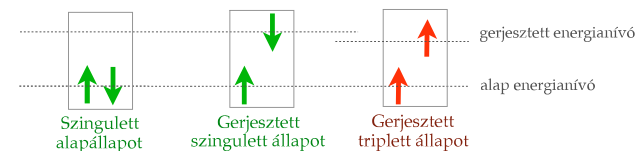
betöltött alhéj: spin párosítás
(ellentétes spinű elektronok párosodnak)

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 = $(2S+1) = 2+1 = 3$.**

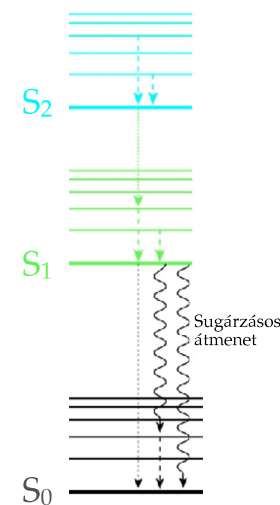


KASHA-SZABÁLY

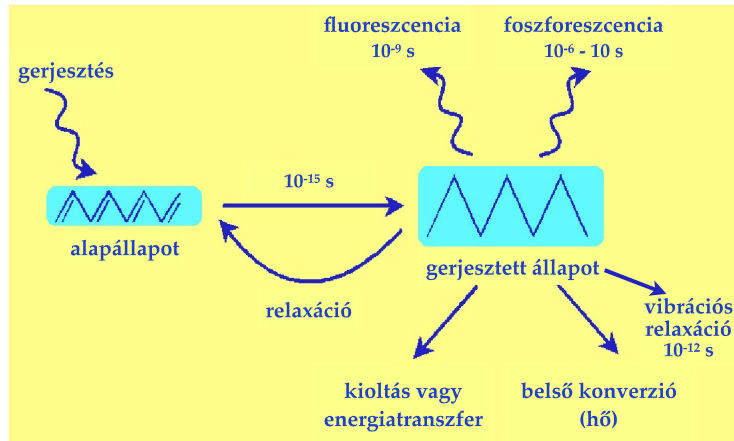
Fotonemisszió (fluoreszcencia vagy foszforszcencia) a legalacsonyabb gerjesztett elektron-energiaállapot (S₁, T₁) legalacsonyabb vibrációs szintjéről történő átmenet során lép fel.



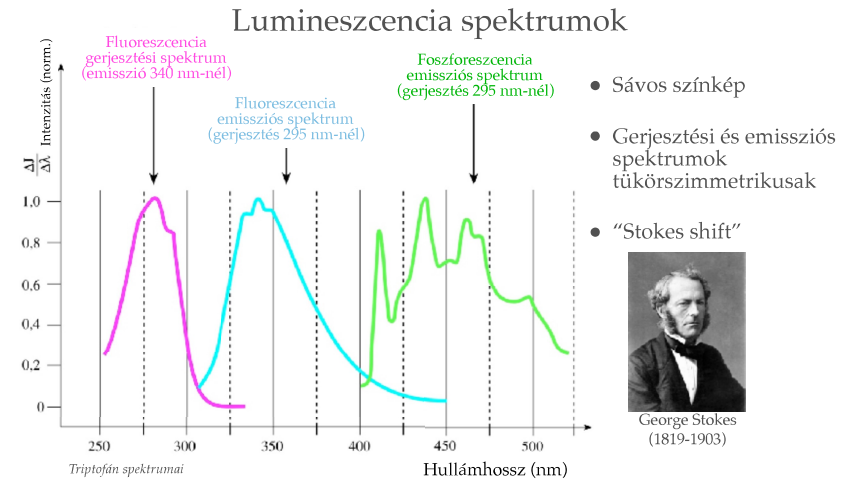
Michael Kasha (1920-)
Amerikai fizikus



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.

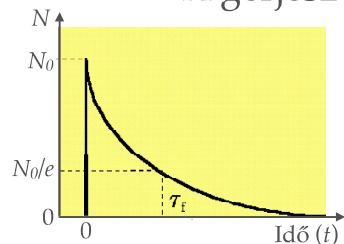
Kvantumhatásfok (Φ)

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

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

k_{nr} = nem sugárzásos átmenetek sebességi állandói

A gerjesztett állapot élettartama (τ)



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

N = gerjesztett állapotú molekulák száma
 t = idő

k_f = fluoreszcencia sebességi állandó

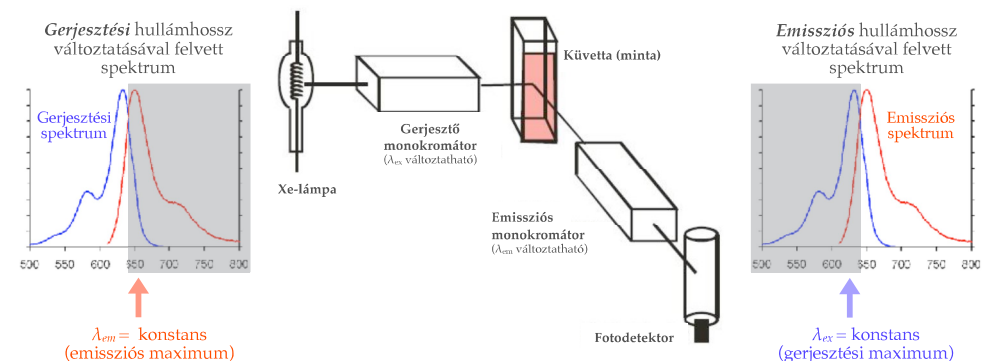
k_{nr} = nem-sugárzásos átmenetek sebességi állandója

τ = fluoreszcencia élettartam

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

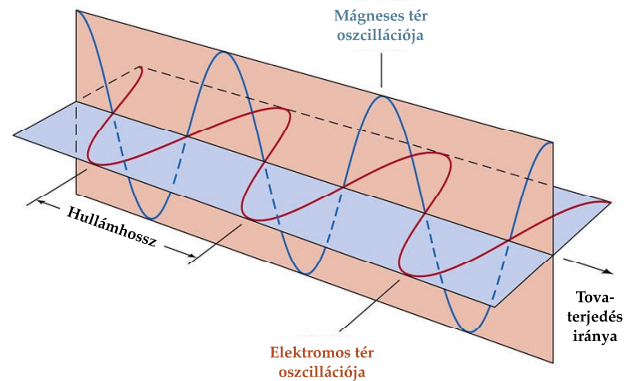
A FLUORESZCENCIA MÉRÉSE

Fluoreszcencia spektrométer
("Steady-state" spektrofluoriméter)

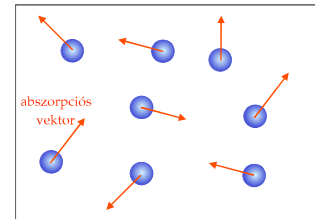


A FÉNY ELEKTROMÁGNESES HULLÁM

- Térben tovaterjedő elektromágneses zavar.
- Transzverzális hullám.
- Polarizálható.



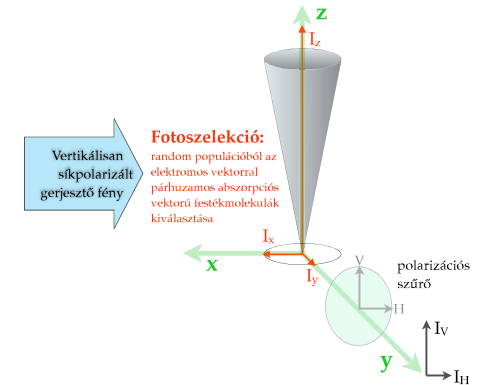
POLARIZÁCIÓ, ANIZOTRÓPIA



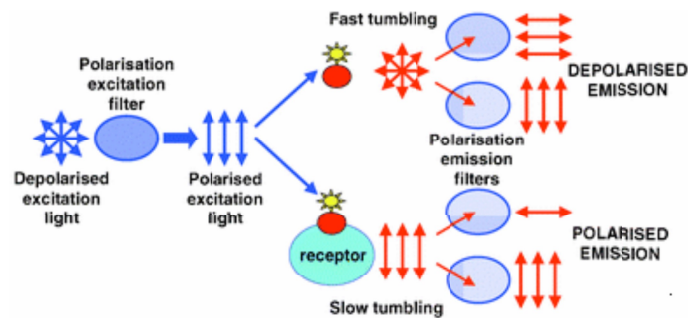
Fluorofórokhoz rendelhető **abszorpciós és emissziós vektor**: megszabja a foton abszorpció és emisszió valószínűségét.

Abszorpció maximális, ha absz. vektor és a fény elektromos vektora párhuzamos.

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



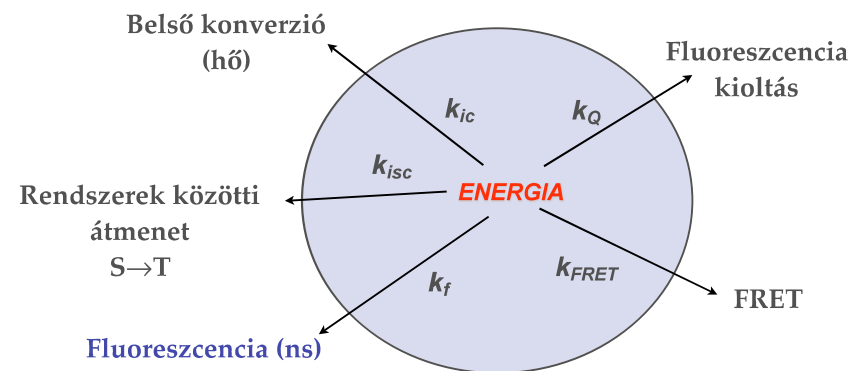
POLARIZÁCIÓ, ANIZOTRÓPIA



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

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

GERJESZTÉS SORÁN ELNYELT ENERGIA SORSA



Fluoreszcencia (ns)
Foszforeszcencia (ms)

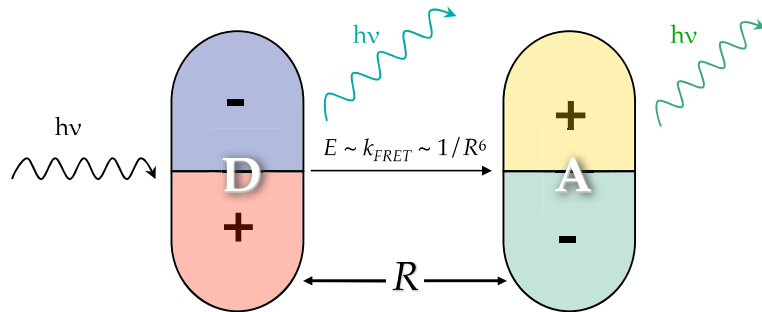
Sugárzásos v. nem sugárzásos átmenetek!

Förster Rezonancia Energia Transzfer (FRET)

- A gerjesztett állapotban lévő molekula (**donor**), valamint egy megfelelő spektroszkópiás követelményeket kielégítő molekula (**akceptor**) között **dipól-dipól** kölcsönhatás révén, **sugárzás nélküli** energiaátadás formájában jön létre.
- Fluoreszcencia Rezonancia Energia Transzfer (FRET)**: ha az energiáttranszfer szereplői fluorofórok.

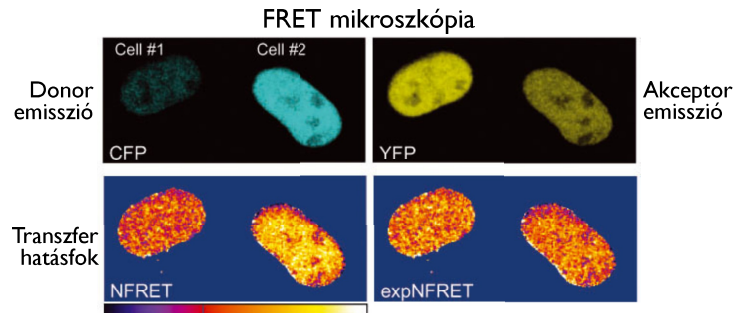


Theodor Förster
(1910-1974)



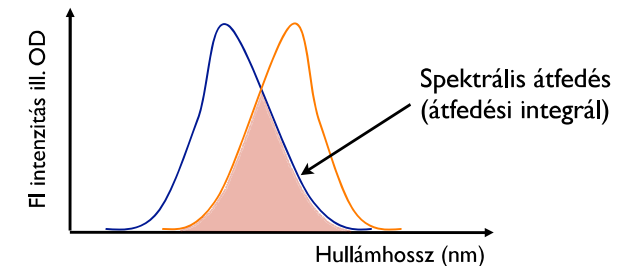
A FRET alkalmazása

- Molekuláris mérőszalag**: távolságmérés a nm-es (10^{-9} m) tartományban.
- Nagyon érzékeny (lásd hatvány összefüggés)!
- Alkalmazás**:
 - Molekulák közötti **kölcsönhatások** tanulmányozása.
 - Molekulákon belüli **szerkezeti** változások tanulmányozása.



A FRET feltételei

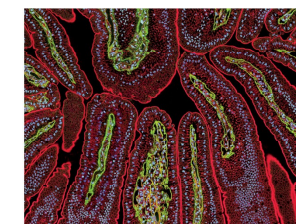
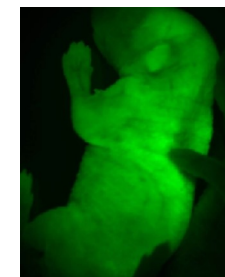
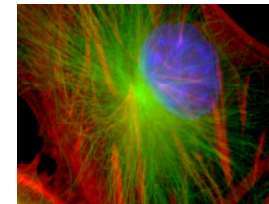
- Fluoreszcens** donor (D) és akceptor (A) molekula.
- A donor és akceptor molekula közötti **távolság (R)** 2-10 nm!
- Átfedés** a **donor emissziós spektruma** és az **akceptor abszorpció spektruma** között.



A fluoreszcencia orvosi-biológiai alkalmazásai

Néhány példa:

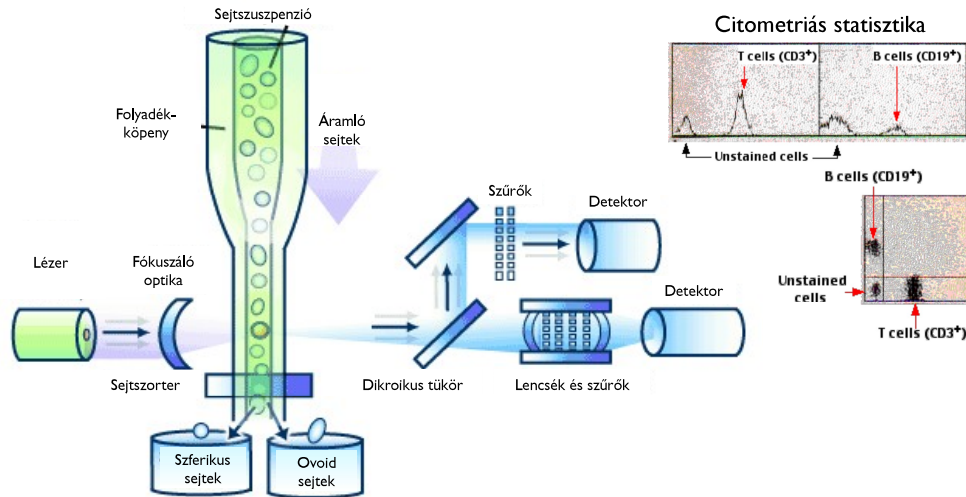
- Fluoreszcencia mikroszkópia
- DNS szekvenálás (lánc terminációs módszer)
- DNS festés (EtBr)
- DNS microarray technológia
- Immunfluoreszcencia
- Fluoreszcencia-aktivált sejt válogatás (FACS)
- Förster rezonancia energia transzfer (FRET)
- "Fluorescence recovery after photobleaching" (FRAP)
- Fluoreszcens fehérje-konjugációs technikák
- Jelölés kvantum pontokkal (quantum dots)
- stb...



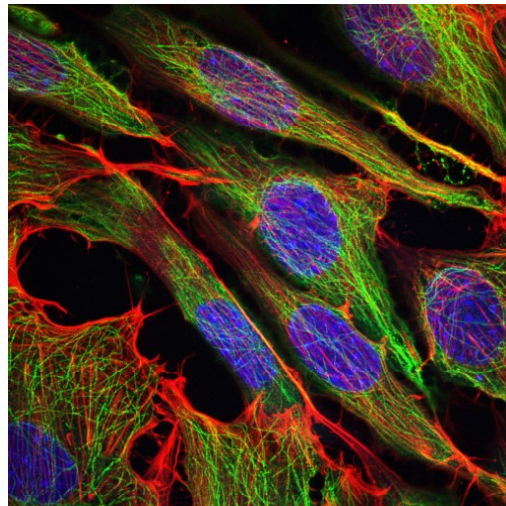
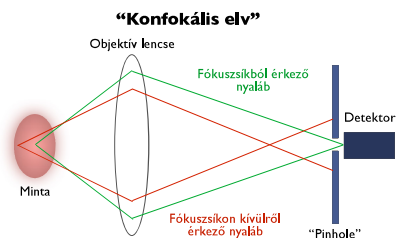
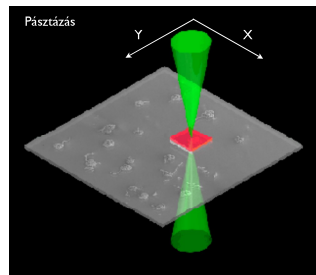
Fluorescence activated cell sorter (FACS)

Fluoreszcencia aktivált sejtválogatás; Áramlási citometria (flow cytometry)

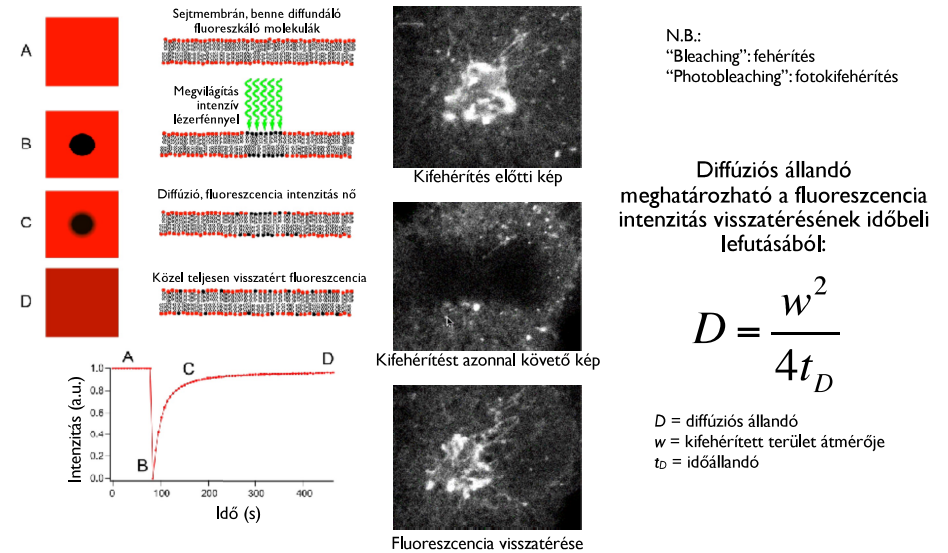
- Fluoreszcensen fajlagosan megjelölt sejtuszpenziót sejtenként analizálunk
- Sok paramétert mérünk (fluoreszcencia intenzitás különböző hullámhosszon, kis- és nagyszögű szórás)
- Statisztikai analízist végzünk
- Szükség esetén a sejteket szétválogathatjuk a paraméterek alapján



Lézer pásztázó konfokális mikroszkópia

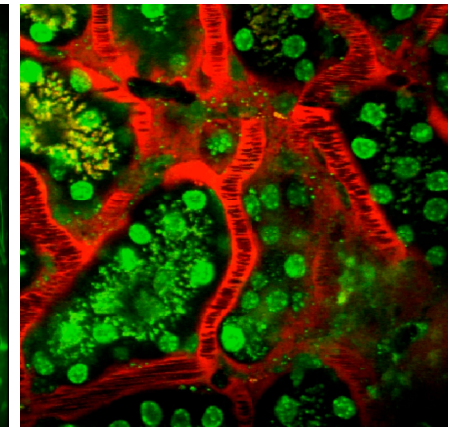
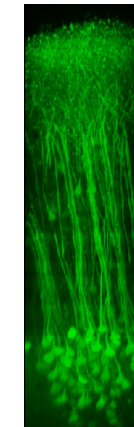
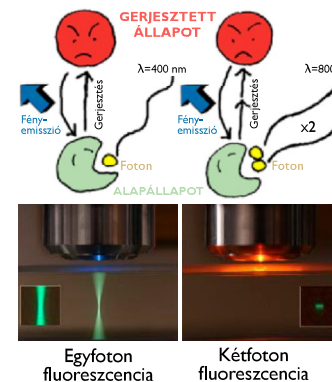


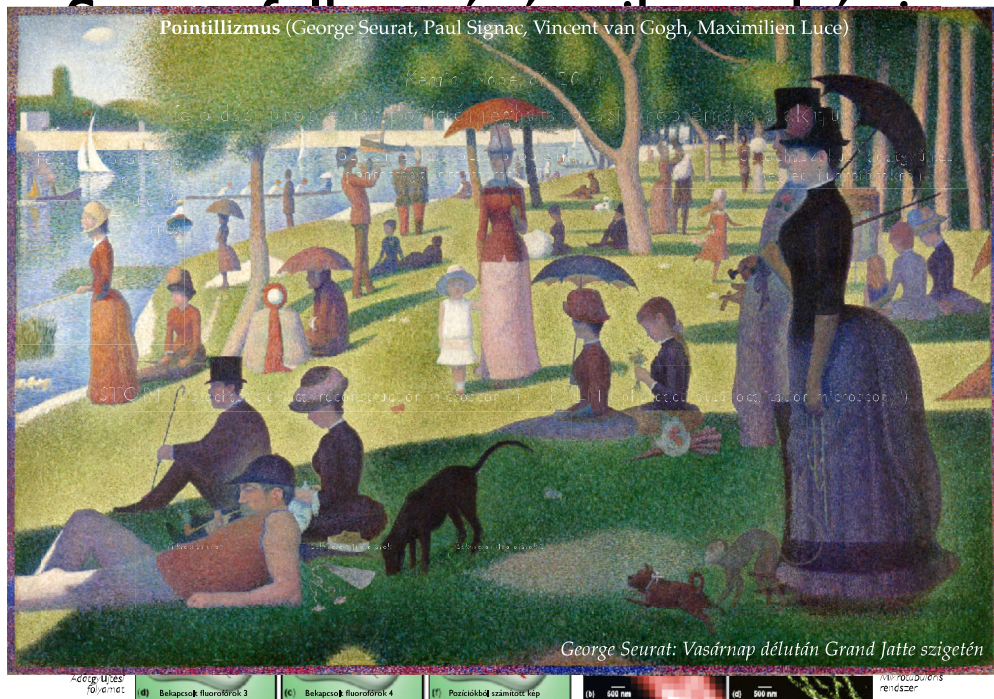
Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP)



Multifoton mikroszkópia

- Két (vagy több) foton energiája összeadódik a gerjesztéskor
- Gerjesztés (következésképp emisszió) csak a fókuszpontban (limitált fotokárosítás)
- Gerjesztés nagy (közel IR) hullámhosszú, rövid (fs) fényimpulzusokkal
- Nagy hullámhossz miatt mély optikai behatolás (akár 2 mm)





Fluoreszcens jelölési technikák

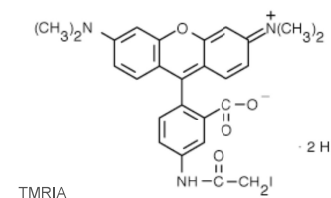
1. Natív oldalláncok jelölése
2. Célzott pontmutagenézis
3. Peptid ligáció
4. C-terminális jelölés puromicin-származékokkal
5. Nem természetes aminosavak pontmutagenézise
(egyedi fluorofór analízisre nem igazán alkalmas)
6. Fehérjekomplexek rekonstitúciója előre megjelölt alegységekből
7. Fluoreszcens fehérjékkel való konjugálás
8. Kvantumpontok

Fehérjefluoreszcencia forrása

- **Intrinsic fluorofórok**
triptofán, tirozin
- **Extrinsic fluorofórok**
kívülről bevitt festékmolekulák,
"fluoreszcens jelölés"
kémiai specificitás?
térbeli specificitás?

Fluoreszcens jelölési technikák

1. Natív oldalláncok jelölése



Fluorofór:
festékmolekula +
kémiai keresztkötő

Relatív kémiai specificitás (SH, NH₂)

Relatív térbeli specificitás

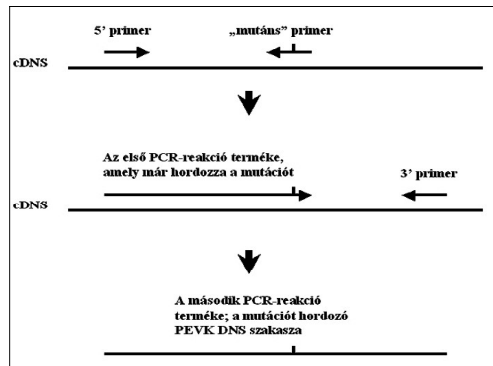
Lépések:

- moláris arány számítása
- inkubálás
- nem kötődött festék eltávolítása (dialízis, kromatográfia)

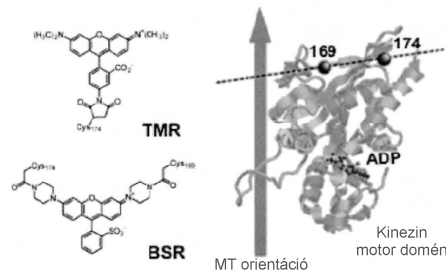
Fluoreszcens jelölési technikák

2. Célzott pontmutagenézis

Cisztein aminosav célzott elhelyezése



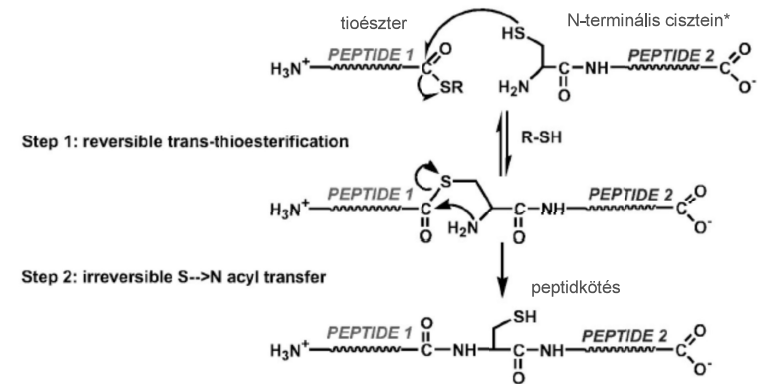
Bifunkcionális fluorofór



Fluoreszcens jelölési technikák

3. Peptid ligáció

Fehérje "összeállítása" szintetikus, fluoreszcensen jelölt peptidekből



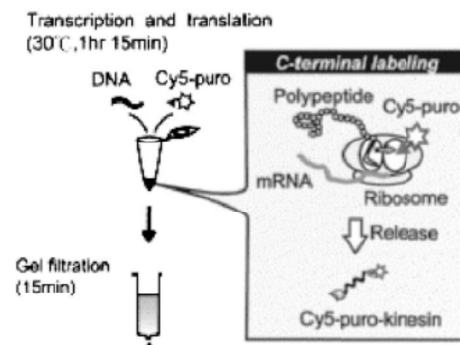
*Csak N-terminális cisztein vesz részt a reakcióban

Fluoreszcens jelölési technikák

4. C-terminális jelölés puromicin-származékokkal

Puromicin:

- riboszóma A helyére, az aminoacyl tRNS helyére kötődő antibiotikum
- fehérjeszintézist gátol
- kovalensen kapcsolódik a már megszintetizálódott fehérje C-terminálisához
- fluoreszcens konjugátumai fehérjelöelésre használhatók



Fluoreszcens jelölési technikák

5. Nem természetes aminosavak pontmutagenézise

1. Direkt: intrinzip fluorofór származékok (pl. 7-aza-triptofán)
2. Indirekt: nem proteinogén reaktív csoportokat (pl. keto) tartalmazó aminosavak

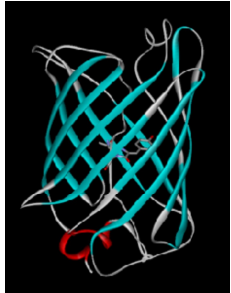
6. Fehérjekomplexek rekonstitúciója előre megjelölt alegységekből

Multi-subunit (alegység) fehérjék, fehérjekomplexek esetén

Fluoreszcens jelölési technikák

7. Fluoreszcens fehérjével való konjugálás

1. Zöld fluoreszcens fehérje (Green Fluorescent Protein, GFP)



Méret: ~27 kDa, 238 aa

Szerkezet: 11-szálú β -hordó

Kromofór: a központi hélix Ser65-Tyr66-Gly67 oldalláncaiból

Fluoreszcencia 3D szerkezet intaktaságától függ

Tandem fúziós konstrukció a GFP és a vizsgált fehérje génjeiből

Előnyök: *in vivo* mérések, mutánsokból spektrális variánsok állíthatók elő, melyek több különböző konstrukció együttes vizsgálatát is lehetővé teszik.

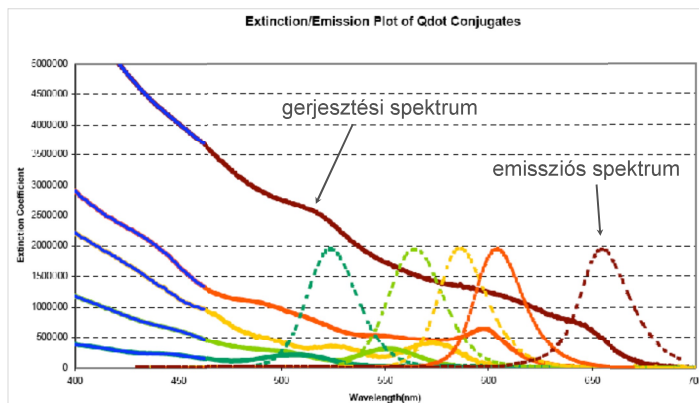
Hátrányok: pislogás, csak terminális (N vagy C) jelölés, a GFP a célfehérje működését szterikusan befolyásolhatja.

2. A GFP egyéb színű (kék, sárga, vörös) mutánsai

3. Fotoaktiválható GFP analóg

4. Kaede: korallból származó fluoreszcens fehérje, mely UV-indukálható zöld-vörös fotokonverziót mutat

Kvantumpont jelölés



Előnyök:

széles gerjesztési spektrum

hangolható emissziós spektrum

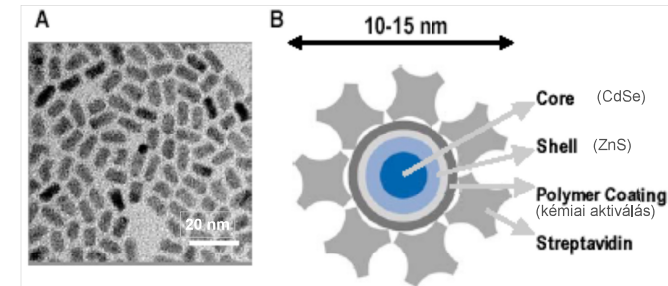
fotokiféledéssel szemben rendkívül ellenállóak

Fluoreszcens jelölési technikák

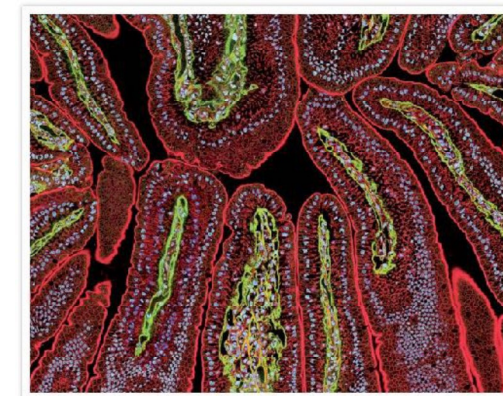
8. Kvantumpontok

Félvezető nanokristályok

Emissziós spektrum a méret függvénye



Kvantumpont jelölés



Vörös: aktin
Zöld: Laminin
Kék: sejtmag

A mouse intestinal section visualized using fluorescent Qdot nanocrystal conjugates. Actin was labeled with a mouse anti-actin monoclonal antibody and visualized using red-fluorescent Qdot 655 goat F(ab')₂ anti-mouse IgG. Laminin was labeled with a rabbit anti-laminin polyclonal antibody and visualized using green-fluorescent Qdot 525 goat F(ab')₂ anti-rabbit IgG. Nuclei were stained with blue-fluorescent Hoechst 33342.

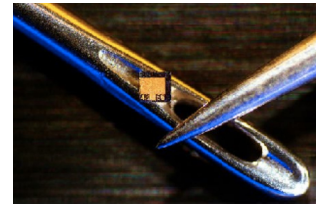
LUMINESZCENCIÁN ALAPULÓ FÉNYERŐSÍTÉS: LÉZER

ALAPOK, TULAJDONSÁGOK, ALKALMAZÁSOK

LÉZER

1. Mi a lézer?
2. Rövid lézertörténet
3. A lézerműködés alapjai
4. A lézerfény tulajdonságai
5. A lézerek típusai
6. A lézer orvosi és biológiai alkalmazásai

LÉZEREK MINDENÜTT



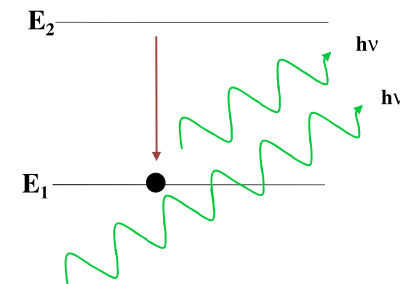
5 mW diódalézer
néhány mm



Terawattos NOVA lézer - Lawrence Livermore Laboratories
Futballpálya méret

LÉZER:

“LIGHT AMPLIFICATION BY STIMULATED EMISSION OF RADIATION”



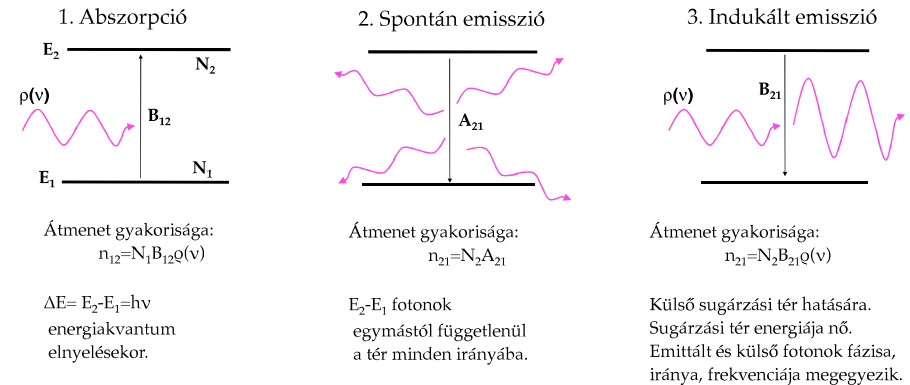
Fényerősítést megvalósító lumineszcens fényforrás.
MASER: Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation

LÉZERTÖRTÉNET DIÓHÉJBAN



- **1917** - *Albert Einstein*: indukált emisszió elméleti predikciója.
- **1946** - *G. Meyer-Schwickerather*: első szemműtét fényvel.
- **1950** - *Arthur Schawlow és Charles Townes*: az emittált fotonok a látható tartományba eshetnek.
- **1954** - *N.G. Basov, A.M. Prochorov, és C. Townes*: ammónia mézer
- **1960** - *Theodore Maiman*: első lézer (rubin lézer)
- **1964** - *Basov, Prochorov, Townes (Nobel-díj)*: kvantum elektronika
- **1970** - *Arthur Ashkin*: lézercsipesz
- **1971** - *Gábor Dénes (Nobel-díj)*: holográfia
- **1997** - *S. Chu, W.D. Phillips és C. Cohen-Tanoudji (Nobel-díj)*: lézeres atomhűtés.
- **2013. október 8** - *NIF* (National Ignition Facility, USA): magfúzió beindítása 192 lézernyalábbal, pozitív energiamérleg.
- **2017** - *ELI* (Extreme Light Infrastructure) indulása, Szeged. Attoszekundumos (10^{-18} s) fényimpulzusok előállítás.

A LÉZER ALAPJAI I. INDUKÁLT (STIMULÁLT) EMISSZIÓ



Magyarázat: kétállapotú atomi vagy molekuláris rendszer

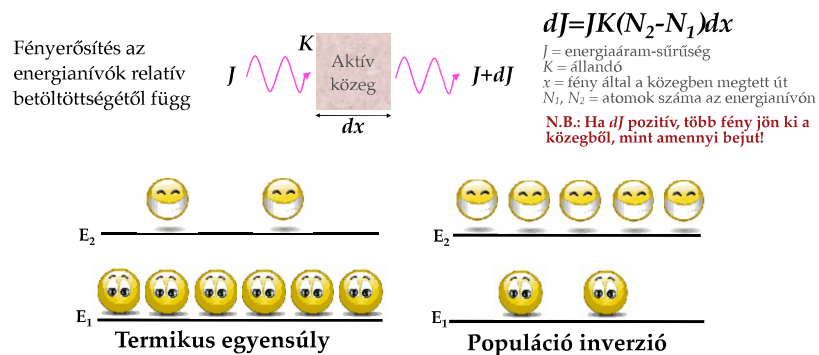
E_1, E_2 : energianívók, $E_2 > E_1$

$Q(\nu)$: sugárzási tér spektrális energiasűrűsége

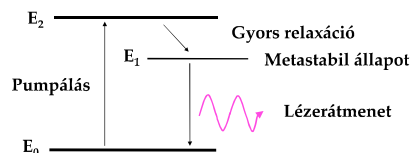
N_1, N_2 : adott energianívón levő atomok, molekulák száma

B_{12}, A_{21}, B_{21} : energianívók közötti átmeneti valószínűségek (Einstein-féle együtthatók), $B_{12} = B_{21}$

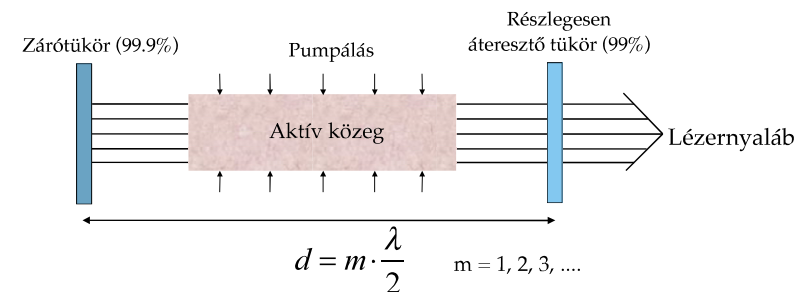
A LÉZER ALAPJAI II. POPULÁCIÓ INVERZIÓ



- Populáció inverzió csak többállapotú rendszerben!
- Pumpálás: elektromos, optikai, kémiai energia



A LÉZER ALAPJAI III. OPTIKAI REZONANCIA



Rezonátor:

- két párhuzamos sík (vagy homorú) tükör
- a kimenő fényt eljuttatja egy részét visszacsatolja a közegbe
- pozitív visszacsatolás \rightarrow öngerjesztés \rightarrow rezonancia

• Optikai zár a rezonátorban: Q-csatolás, impulzus üzemmód

A LÉZERFÉNY TULAJDONSÁGAI I.

1. Kis divergencia

Párhuzamos nyaláb

2. Nagy teljesítmény

Folytonos üzemmódban több tíz, akár száz W (pl. CO₂ lézer)

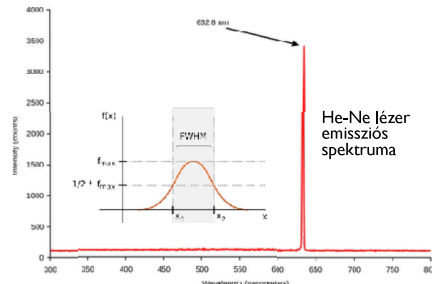
Q-csatolású üzemmódban a pillanatnyi teljesítmény hatalmas (GW)

Kis divergencia miatt óriási térbeli teljesítménysűrűség

3. Kis spektrális sávszélesség

“Monokromaticitás”

Nagy spektrális energiasűrűség



4. Polarizáltság

5. Rendkívül rövid impulzusok lehetősége

ps, fs

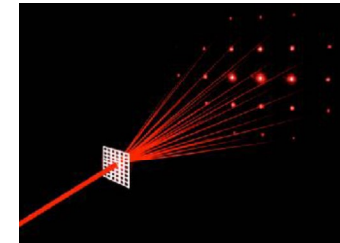
A LÉZERFÉNY TULAJDONSÁGAI II.

6. Koherencia

Fázisazonosság, interferenciaképesség

Időbeli koherencia (különböző időpontokban emittált fotonok fázisazonossága)

Térbeli koherencia (nyalábkeresztmetszet menti fázisazonosság)



Alkalmazás: holográfia, optikai koherencia tomográfia

LÉZERTÍPUSOK

Fényerősítő közeg alapján:

1. Szilárdtest lézerek

Kristályokba v. üvegyanyagokba bevitt fémszennyeződések; Rubin, Nd-YAG, Ti-zafir

Vörös-infravörös spektrális tartomány; Folytonos, Q-kapcsolású üzemmód, nagy teljesítmény

2. Gázlézerek

Legismertebb: He-Ne lézer (10 He/Ne). Kis energia, Széleskörű használat

CO₂ lézer: CO₂-N₂-He keverék; λ=10 μm; Óriási teljesítmény (100 W)

3. Festéklézerek

Szerves festékek (pl. rodamin, kumarin) híg oldata; Pumpálásra más lézer használt

Nagy teljesítmény (Q-kapcsolt módban); Hangolható

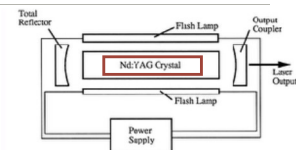
4. Félvezető lézerek

Összekevert p- és n-típusú, szennyezett félvezetők határán.

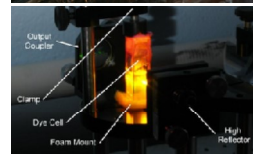
Rezonátor tükrökre nincs szükség (belső visszaverődés)

Vörös, IR spektrális tartomány. Nagy kontinuos üzemmódú teljesítmény (akár 100W)

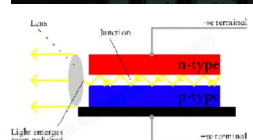
Nyalábkarakterisztika nem túl jó. Kis méret miatt széleskörű alkalmazás.



fémlemez
vágása
CO₂
lézerrel

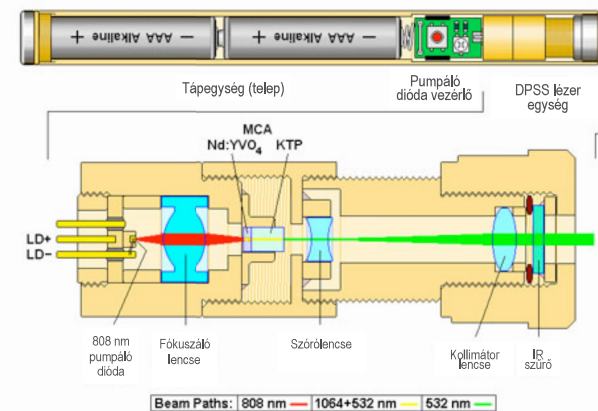


festéklézer



diódlézer

A ZÖLD LÉZERMUTATÓ



Lépések:

1. Diódlézer (808 nm) pumpál
2. Szilárdtest-lézer (Nd:YVO₄: neodimiummal szennyezett yttrium-vanadát) 1064 nm-es fényt állít elő
3. KTP (kálium titánil-foszfát) kristály frekvenciát dupláz (hullámhosszt felez): 532 nm (zöld)

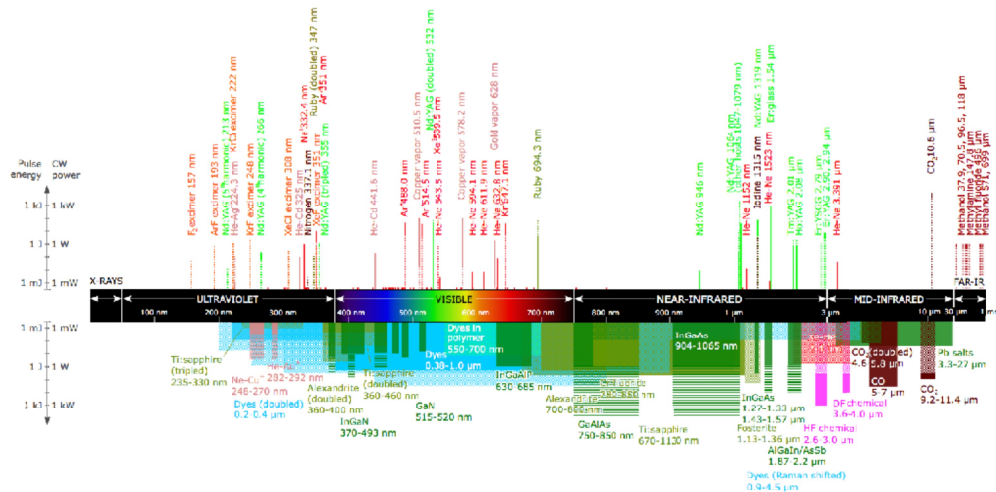
*Megjegyzések:

DPSS: diode-pumped solid state

MCA: multiple crystal assembly

LD: laser diode

LÉZEREK, SPEKTRÁLIS VONALAK ÉS SÁVOK



A röntgentől az infravörösig rendelkezésre állnak lézervonalak.

LÉZERALKALMAZÁS SZEMPONTJAI

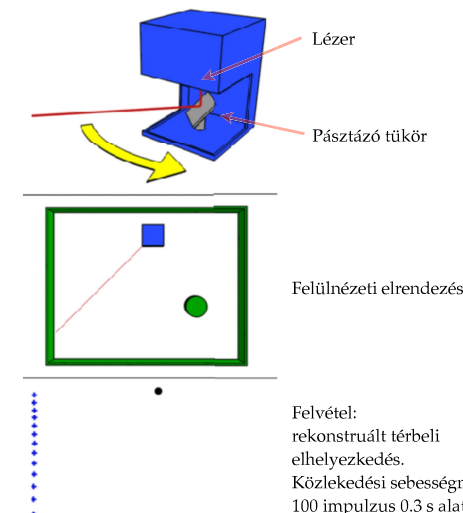
- Irányíthatóság
- Teljesítmény
- Monokromaticitás
- Koherencia

LÉZEREK ALKALMAZÁSA TELJESÍTMÉNY ALAPJÁN

- 5 mW – CD-ROM meghajtó
- 5–10 mW – DVD lejátszó vagy DVD-ROM meghajtó
- 100 mW – Nagysebességű CD-RW író
- 250 mW – DVD-R író
- 1–20 W – szilárdtest-lézer mikromegmunkálásra
- 30–100 W – sebészeti CO₂ lézer
- 100–3000 W – ipari CO₂ lézer (lézervágó)
- 1 kW – 1 cm diódlézer rúd

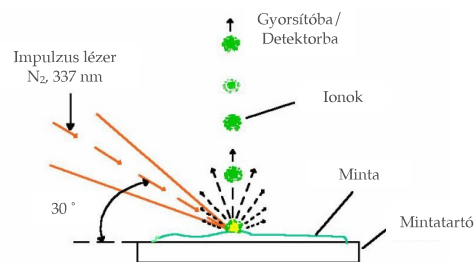
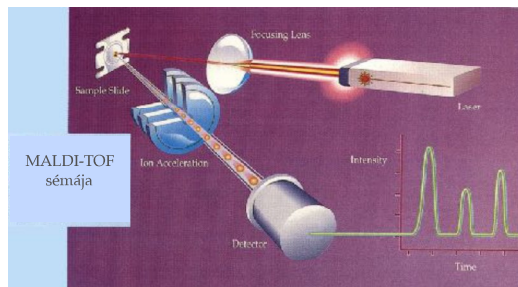
Irányíthatóság

SEBESSÉGMÉRÉS LÉZERREL LIDAR: “LIGHT DETECTION AND RANGING”

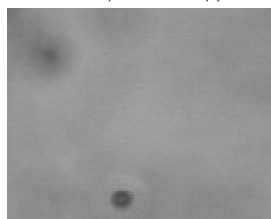
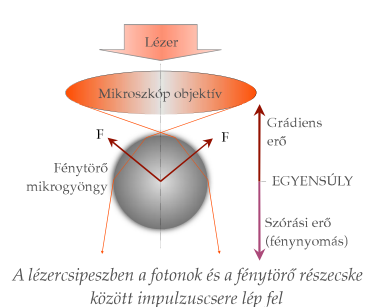


MALDI-TOF:

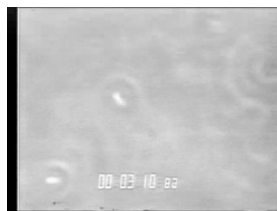
MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION/IONIZATION
TIME OF FLIGHT MASS SPECTROMETRY



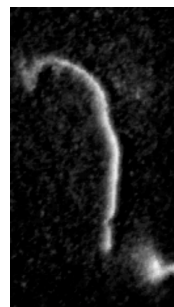
LÉZERCSSIPESZ



Baktérium sejt manipulálása lézercsipesszel



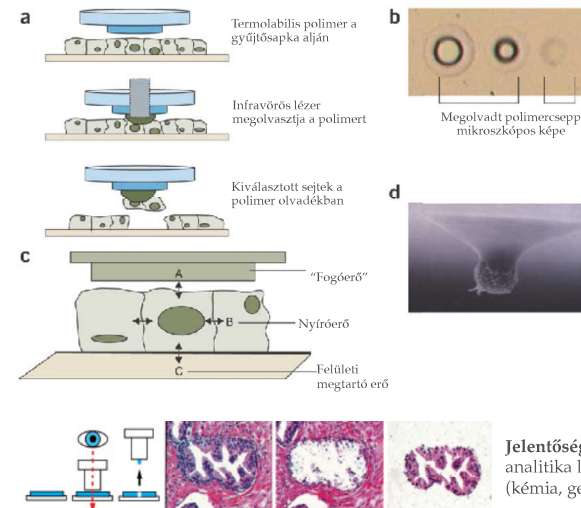
Molekula manipulálása lézercsipesszel



Molekuláris erőmérés lehetősége!



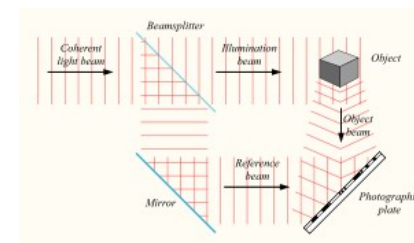
“LASER CAPTURE MICRODISSECTION”



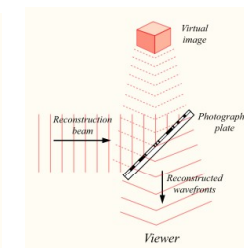
HOLOGRÁFIA



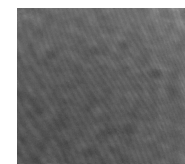
Gábor Dénes (1900-1979)



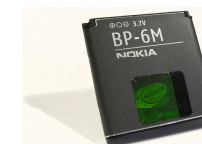
Hologram felvétele



Hologram megtekintése



Hologram fotólemez felülete



Hologramok

STED mikroszkópia (STimulated Emission Depletion)

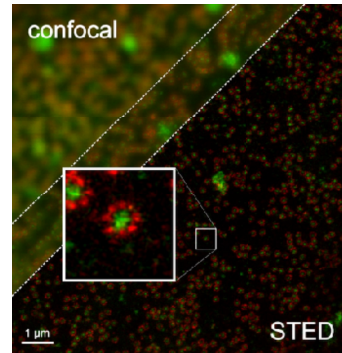
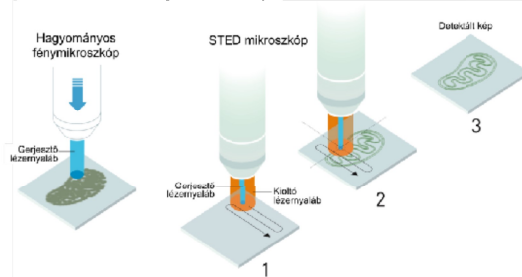
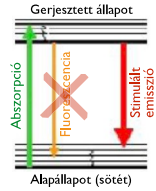
Lézer alapjenség,
monokromaticitás,
teljesítmény, irányíthatóság



Stefan Hell
(Nobel-díj 2014)

Hell: $d = \frac{\lambda}{2 \cdot NA \sqrt{1 + I/I_s}}$

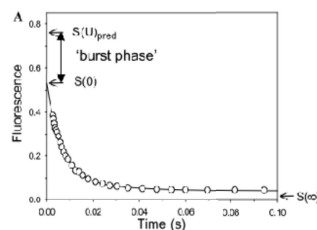
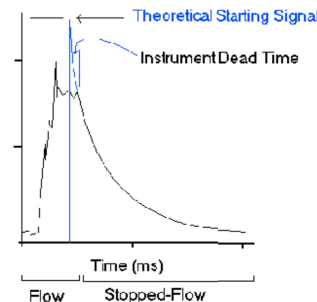
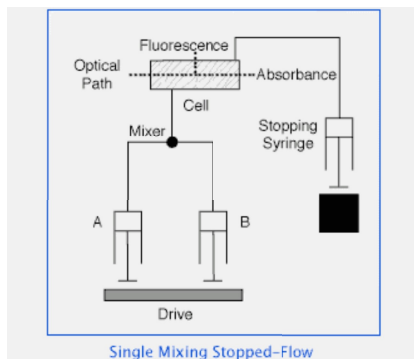
Abbé: $d = \frac{\lambda}{2 \cdot NA}$



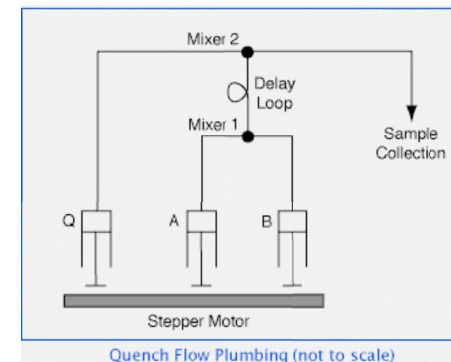
Maghártya pórus
komplexek STED
mikroszkópos képe

Depletáló lézer intenzitás (I) növelése

FEHÉRJEGOMBOLYODÁS VIZSGÁLATA: STOPPED-FLOW



FEHÉRJEGOMBOLYODÁS VIZSGÁLATA: QUENCH-FLOW



Analitika kémiai módszerekkel (SDS-PAGE, stb.)