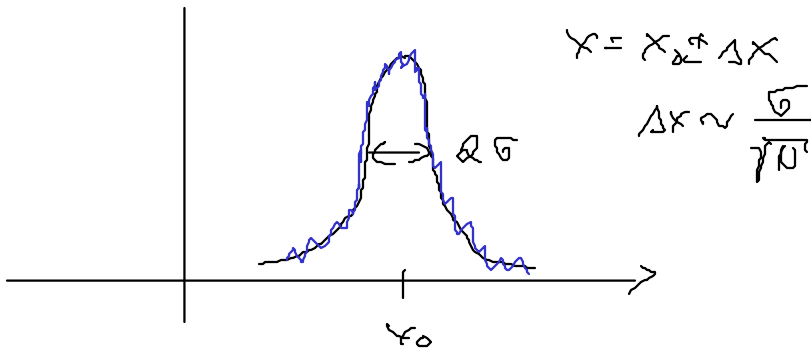


Single molecule tracking

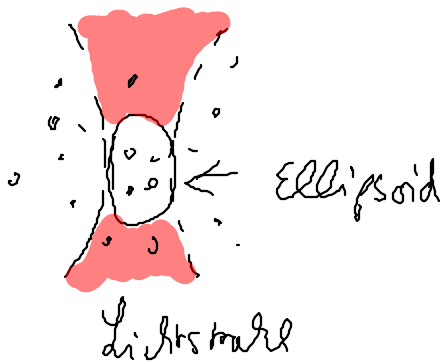


Bewegungsenergie

optische Zange (tweezer)

- mit Licht wird Teilchen festgehalten
 \Rightarrow Bewegung eines Moleküls an Filamenten
 mit 2 tweezern erkennbar
- Fluoreszenz von ATP an Myosin \Rightarrow Bewegung

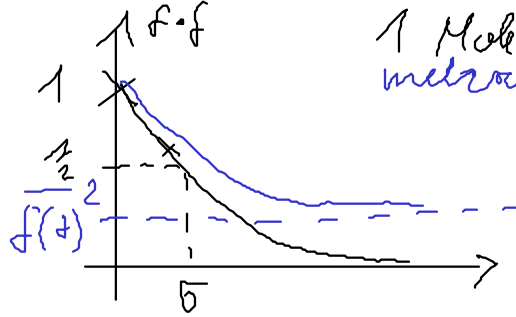
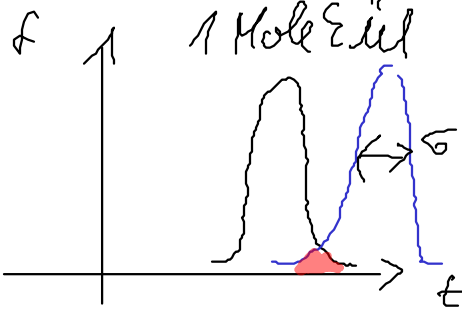
Fluorescence correlation spectroscopy



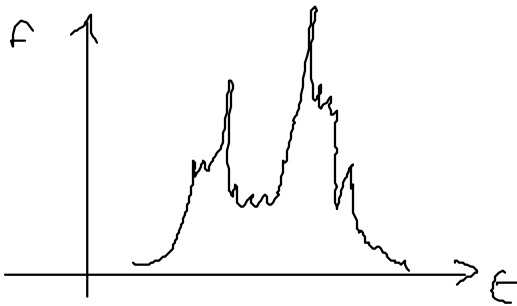
- confocal microscope
 ellipsoid = ausgangsvolumen
- mittlere Verweilzeit eines Moleküls \Rightarrow Beweglichkeit der Moleküle
 D groß $\Rightarrow t$ klein \Rightarrow Diffusionskoeffizient
 residence time

Correlations spectroscopy

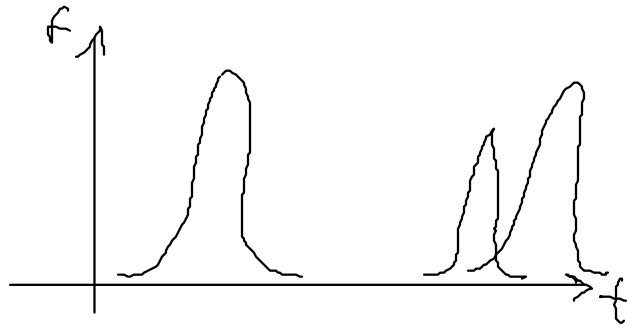
- Auto correlation function $F(t) = \int \delta f(t) \delta f(t+\tau) dt$



geht auch mit



mehrere Moleküle



- Normierte Autokorrelationsfluktuationfunktion

$$G(\tau) = \frac{\int \delta f(t) \delta f(t+\tau) dt}{\overline{f(t)}^2} = \frac{\langle \delta f(t) \delta f(t+\tau) \rangle}{\overline{f(t)}^2}$$

mit $\delta f(t) = f(t) - \overline{f(t)}$

Diffusion

div \vec{j} + $\frac{\partial}{\partial t} n = 0$ (kontinuitätsgl.)

n : Teilchenzahl dichte

\vec{j} : Teilchenstromdichte

1. Ficksches Gesetz:

$$\vec{j} = -D \text{grad } n$$

2. Ficksches Gesetz:

$$\nabla^2 n - \frac{1}{D} \frac{\partial}{\partial t} n = 0 \text{ Diffusionsgl.}$$

$$\langle \Delta x^2 \rangle = 2 \cdot D \cdot \Delta t \quad (\text{1dimensional})$$

- mittlere Entfernung eines Teilchens nach Δt

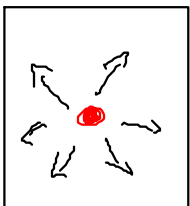
$$\langle \Delta r^2 \rangle = \langle \Delta x^2 \rangle + \langle \Delta y^2 \rangle + \langle \Delta z^2 \rangle = 6 \cdot D \cdot \Delta t$$

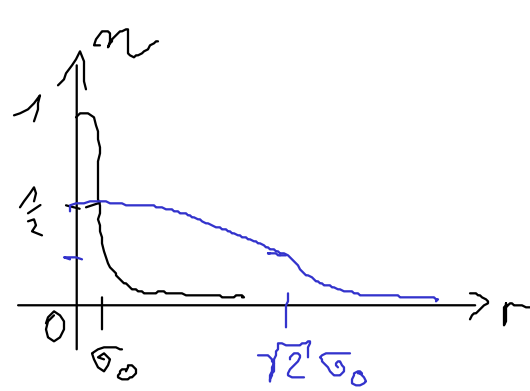
- Ausgangsverteilung

$$n(\vec{r}, t=0) = n_0 e^{-\left(\frac{r}{\sigma_0}\right)^2}$$

$$\Rightarrow n(\vec{r}, t) = \left(\frac{\sigma_0}{\sigma(t)}\right)^2 n_0 e^{-\left(\frac{r}{\sigma(t)}\right)^2}$$

$$\sigma(t) = \sigma_0 + \sqrt{6 D t}$$





$$n(r) = n_0 \cdot w(r)$$

Wahrscheinlichkeitsdichte $w(r)$

Fluktuation im Konf. Detektionsvolumen

$$P(F(t)) = k \cdot \int_V \underbrace{I_{ex}(r)}_{w(r)} \underbrace{s(r)}_{\eta} \underbrace{P(\sigma \alpha c(r,t))}_{\eta} dV$$

k Detektionskoeffizient

I_{ex} Ausgangsintensität

$s(r)$ optische Transferfkt.

σ Absorptionsquerschnitt

α quantum efficiency

c Konzentrationsfluktuation

$$P(\eta \cdot c) = c P\eta + \eta P c$$

wird zunächst vernachlässigt = Bleiken

$$\langle P c(r,t) P c(r',t+\tau) \rangle = \langle c \rangle \frac{1}{(4\pi D \tau)^{3/2}} \exp\left[-\frac{(r-r')^2}{4D\tau}\right]$$

$$\tau_D = \frac{r_0^2}{4D}$$

$$V_{eff} = \pi^{3/2} r_0^2 z_0$$



z_0 bei $\frac{1}{e^2}$

bei $\frac{1}{e^2}$



$$G(\tau) = \frac{1}{V_{eff} - \langle c \rangle (1 + \frac{\tau}{\tau_D})} \frac{1}{\sqrt{1 + (\frac{r_0}{z_0})^2 \frac{\tau}{\tau_D}}}$$

$$\langle N \rangle = V_{eff} \cdot \langle c \rangle$$

\Rightarrow nonlineares least square fit $\Rightarrow \tau_D$ und $\langle N \rangle$

= Autokorrelationsanalyse

• keine Mittelung über die Zeit

• man kann auch die Verweilzeit im Triplett Zustand mit $G(\tau)$ bestimmen (füge weiteren Term hinzu)

Aus Autokorrelation:

Anti-bunching (keine Bündel), Rotationsfluktuationen

Triplett und Diffusion