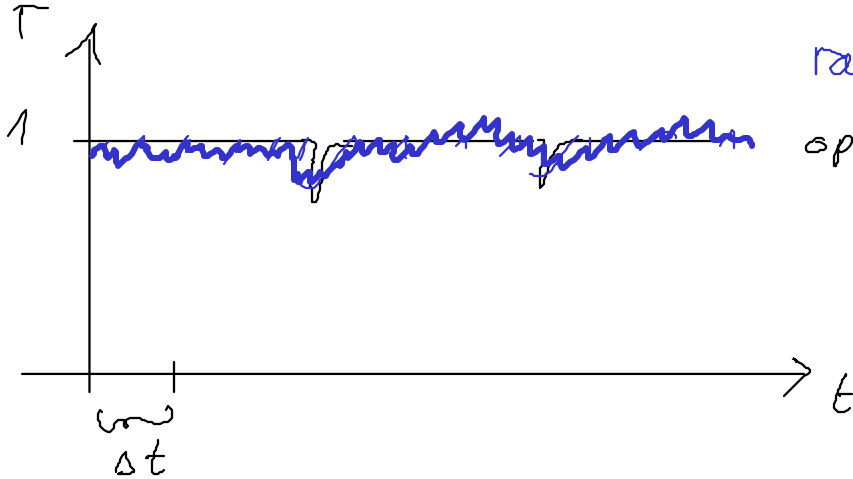


# Einzel-Moleküle

## • Messung und Transmission



Rauschen (praktisch)

optimal (theoretisch)

$$I(t) = I_0 e^{-\alpha t}$$

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$$I(t) \propto \frac{\Delta N(t)}{\Delta t}$$

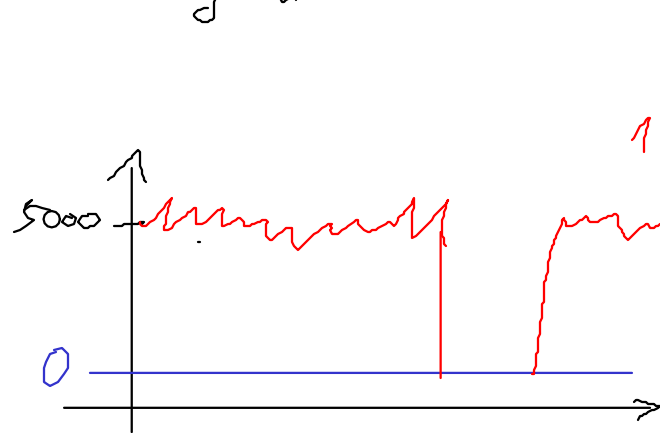
## • Mittelere Schwankung (Rauschen)

$$\sqrt{\langle \Delta I^2 \rangle} \propto \sqrt{\Delta N}$$

Höhere Intensität verstärkt das Rauschen

$$\frac{\sqrt{\langle \Delta I^2 \rangle}}{I_0} \propto \frac{1}{\sqrt{\Delta N}}$$

## • Messung und Fluoreszenz



Rauschen kein inh. vgl. zu Signal  
 $\Rightarrow$  kein Hintergrund

# Farbstoffe

## • Absorption und Emission von Licht

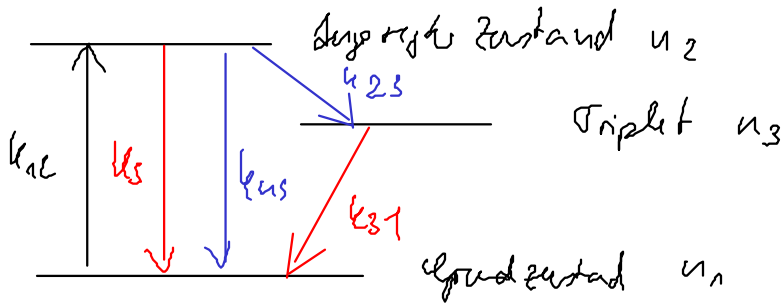
Photonen verlieren Energie bei der Anregung des Moleküls

$\Rightarrow$  Wellenlänge des Lichts ändert sich

$\Rightarrow$  hohe Quantenausbeute

## • Das Molekül gelangt in angeregte Zustände:

- gleicher Spin Zustand  $\Rightarrow$  Emission von Licht  $\Rightarrow$  Grundzustand
- anderer Spin Zustand (Doublet, Triplet, ...)
- $\Rightarrow$  dauert viel länger bis es in Grundzustand gelangt  
an der Übergänge, z.B. Stoffe, nicht durch Licht



nicht sichtbarer Übergang  
sichtbarer Übergang

- Im Gleichgewicht Besetzungszahl  $n = \text{konst.}$
- Emissionsrate ist begrenzt durch Zeit vom angeregten Zustand in Grundzustand zu gelangen.
- $\Rightarrow$  unterbrochene Fluoreszenz
- $\Rightarrow$  Blinken
- $\Rightarrow$  maximale Anzahl Photonen im Molekül pro Zeiteinheit

## Ausrichtung der Moleküle

mit zweierlei Sparten  $\Rightarrow$  Ausrichtung der Moleküle bis auf  $5^\circ$  genau  
bestimmen bei

- zwei Polarisationsrichtungen  $\begin{matrix} \triangleright & \text{Vergleich von Simulation} \\ \updownarrow & \text{mit Messung} \\ \triangleleft & \end{matrix}$

## Ortlche Auflösung

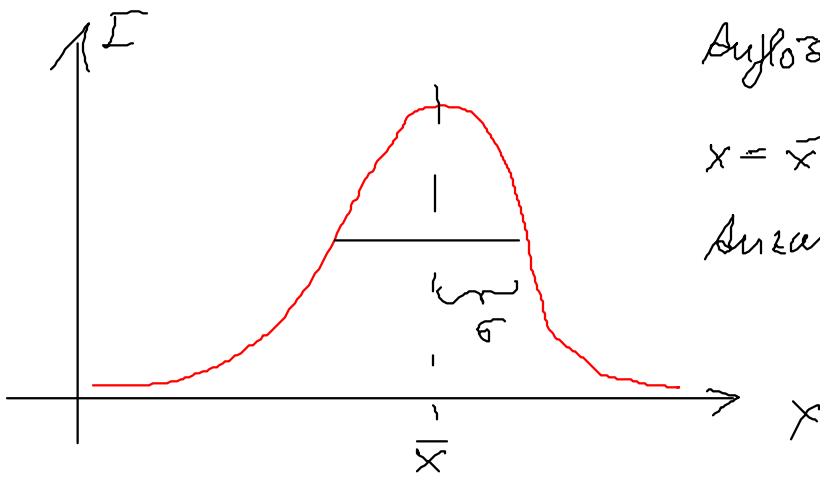
Fernfeld Strahl  $\Rightarrow$  Blinken

- vorwende Moleküle als Spion um Zellen zu beobachten
- $\Rightarrow$  Oneiteitung der Moleküle
- $\Rightarrow$  Bestimmung des Ortes = Mittelwert  
(kesser als Halbwertsbreite)

Auflösung = Halbwertsbreite  $\sigma$

$$x = \bar{x} \pm \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$$

Anzahl der Photonen

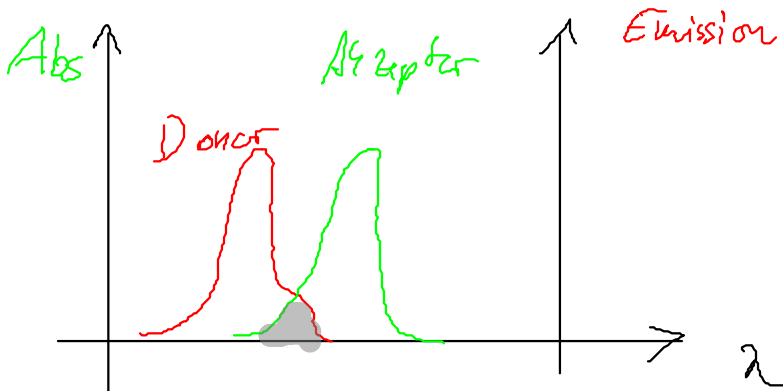


- verschiedene Farbstoffe:  
=> Abstand von Molekülen

## Fluoreszenz Resonante Energie transfer

Antenne 1 (Molekül) und Antenne 2

=> Übertragung der Energie durch Coulomb WW  
Abstandsabhängig (< 10 nm)



- Überlapp:  $\eta_{FRET} \propto$  Überlappfläche

=> Transportprozess nachvollziehbar (dynamisch)  
deiner Beobachtung der Intensitäten

## Lokalisation der Moleküle: Anwendungen

- Cytoskeletton

Myosin kann entlang der Actin-Filamenten wandern

=> ermöglichen Transportprozesse in der Zelle

⇒ Art und Weise der Fortbewegung (Hand over Hand)