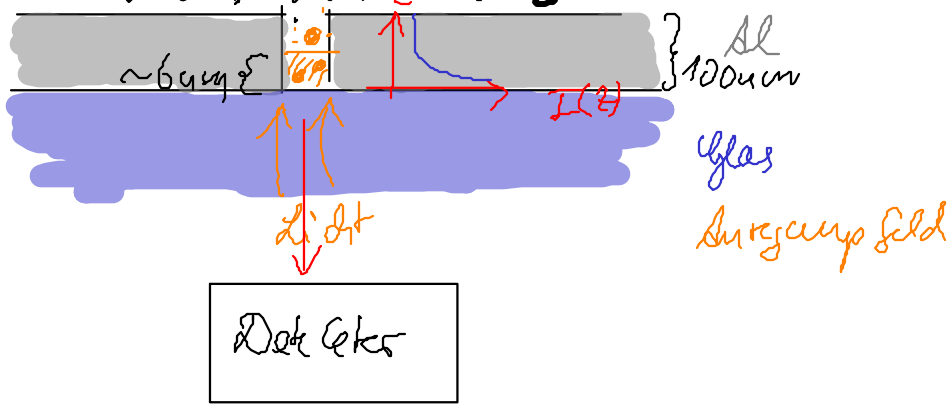


Zem. Mode, Wave. Guides ZMW



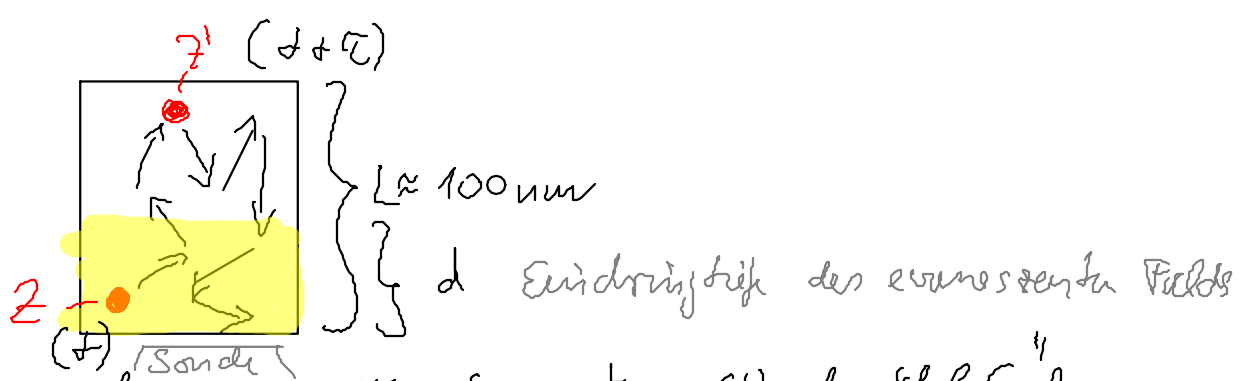
- bei hoher Konzentration von Molekülen
 ⇒ Anregungsvolumen verkleinern
- mit der Fluoreszenzkorrelations-spektroskopie (FCS)
 Korrelationsfunktion $\sim \frac{1}{\langle N \rangle}$
 ⇒ Diffusionskoeffizienten

geht auch mit Nahfeldsonde : FCS

- Vorteil gegenüber der ZMW :
 ⇒ gezielt den Ort wo man messen will auswählen
 (ZMW : nur in Flüssigkeit in einem bestimmten Volumen)

eingesprengtes Molekül mit FCS

- ohne Gradient (gelb) sieht man nichts



- Annahme: man kennt $z(t)$ des Moleküls

- Wahrscheinlichkeitsdichte

$$\frac{dW}{dz} = p(z, z', \tau) = \frac{1}{L} \sum_{m=-\infty}^{\infty} \exp\left[-D\tau \left(\frac{m\pi}{L}\right)^2\right] \cos\left(\frac{m\pi z}{L}\right) \cos\left(\frac{m\pi z'}{L}\right)$$

(aus Fourierzerlegung einer Wahrscheinlichkeit)

$$g(\tau) = \frac{\langle \delta F(t) \delta F(t+\tau) \rangle}{\langle F \rangle^2}$$

- Fluoreszenz $F(t) = Q \cdot I(t)$; $I(t) = I_0 \exp[-\frac{z}{d}]$
Quantenausbeute Q

$$\Rightarrow g(\tau) = \frac{N}{L} \frac{Q^2}{\langle F \rangle^2} \int_0^L dz \int_0^L dz' I(z) I(z') p(z, z', \tau)$$

- mittlere Fluoreszenz $\langle F \rangle = \overline{F(t)} = Q I_0 \frac{N}{L} \int_0^L dz \exp[-\frac{z}{d}]$
Wahrscheinlichkeit überall gleich groß \uparrow Zeit

$$= Q I_0 \frac{N d}{L} (1 - \exp[-\frac{L}{d}])$$

$$\Rightarrow g(\tau) = \frac{L}{N d^2} (1 - \exp[-\frac{L}{d}])^{-2} \int_0^L dz \int_0^L dz' \exp[-\frac{z}{d}] \exp[-\frac{z'}{d}] p(z, z', \tau)$$

$$= \frac{1}{N d^2} (1 - \exp[-\frac{L}{d}])^{-2} \sum_{-\infty}^{\infty} \exp[D\tau (\frac{m\pi}{L})^2] \left(\int_0^L dz e^{-\frac{z}{d}} \cos(\frac{m\pi z}{L}) \right)^2$$

- mit $\int_0^L dz e^{-\frac{z}{d}} \cos(\frac{m\pi z}{L}) = \frac{d}{1 + (\frac{m\pi d}{L})^2} (1 - (-1)^m e^{-\frac{L}{d}})$

$$\Rightarrow g(\tau) = \frac{1}{N} \left(1 + 2 \sum_{m=1}^{\infty} \frac{\exp[-(\frac{m\pi}{L})^2 D\tau]}{1 + (\frac{m\pi d}{L})^2} \left(\frac{1 - (-1)^m e^{-\frac{L}{d}}}{1 - e^{-\frac{L}{d}}} \right)^2 \right) e^{-\frac{\tau}{\tau_R}}$$

endlich Lebensdauer
des Moleküls
oder
Beide möglichkeit
im Topf

Anwendungen

- Kernmembran einer Zelle untersuchen
 \Rightarrow Funktionsweise der Poren
- Zeit und Ortsauflösung