

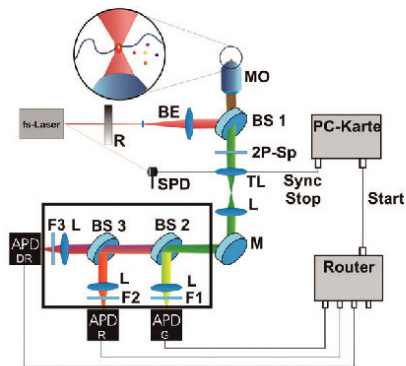


Hendrik Hippchen (Autor)

Konfokale Einzelpartikel-Detektion von fluoreszenz-kodierten Nanospheres.

Hendrik Hippchen

Konfokale Einzelpartikel-Detektion von fluoreszenz-kodierten Nanospheres



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1458>

Copyright:
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	7
2	Einleitung	9
3	Theoretische Grundlagen	11
3.1	Grundlagen der Fluoreszenz.....	11
3.2	Fluoreszenz über Zweiphotonen-Anregung	14
3.2.1	Vorteile der Zweiphotonen-Anregung	15
3.3	Kenngößen der Fluoreszenz.....	16
3.3.1	Die Fluoreszenzlebensdauer	16
3.3.2	Photobleaching und Quenching.....	18
3.3.3	Resonanter Energie-Transfer	19
3.4	Das Messsystem	23
3.4.1	Konfokale Einzelmolekülspektroskopie	23
3.4.2	Störsignale bei der Fluoreszenzmessung	24
3.4.3	Gepulste Titan-Saphir Lasersysteme	25
3.4.4	Lawinenphotodioden.....	27
3.4.5	Zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen.....	27
3.5	Kurvenanpassung mit dem Levenberg-Marquardt-Algorithmus	30
3.6	Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie	31
3.6.1	Die Autokorrelationsfunktion	31
3.6.2	Die Fluoreszenz-Kreuzkorrelations-Spektroskopie	35
3.6.3	Fokalvolumeneffekte auf die FCS Analyse.....	37
4	Experimenteller Teil.....	41
4.1	Die Messapparatur	41
4.1.1	Der Titan-Saphir Laser.....	41
4.1.2	Der konfokale Fluoreszenzmikroskopaufbau	42
4.1.3	Die Avalanche Photodioden	44
4.1.4	Die Datenaufnahme und Speicherstruktur.....	45

4.2	Die verwendeten Proben	46
4.3	Einphotonen-Absorptionsspektren	48
4.4	Einphotonen-Emissionsspektren	48
4.5	Zweiphotonen-Emissionsspektren	48
5	Datenauswertung.....	49
5.1	Datensegmentierung und Glätten.....	49
5.2	Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer	50
5.3	Autokorrelations- und Kreuzkorrelationsanalyse	51
5.4	Bursterkennung und –validierung.....	53
5.5	Burstcharakterisierung.....	56
5.6	Generierung der Identifikationsfilterfunktionen	57
5.6.1	Der Lebensdauerfilter	57
5.6.2	Der Verhältnisfilter	58
5.6.3	Der Segmentfilter	58
5.7	Burstidentifikation.....	60
5.7.1	Identifikation mit Lebensdauer- und Verhältnisfiltern.....	60
5.7.2	Identifikation mit dem Segmentfilter.....	61
6	Ergebnisse	64
6.1	Charakterisierung der Nanosphere-Typen	64
6.1.1	Absorptions- und Emissionsspektren	64
6.1.2	Zeitspuren und prozentuale Gesamtphotonenverteilung auf die Detektoren.....	70
6.1.3	Gesamtfluoreszenzlebensdauern	73
6.1.4	FCS-Messungen	80
6.1.5	Auswahl der Typen für die Burstidentifikationsanalyse	83
6.2	Charakterisierung der Filterverteilungen.....	84
6.2.1	Charakteristika der Lebensdauerfilter.....	84
6.2.2	Charakteristika der Verhältnisfilter.....	87
6.2.3	Charakteristika der Segmentfilter	90

6.3	Anwendungen der Filterfunktionen	96
6.3.1	Simulation von Burstüberlappungen.....	96
6.3.2	Identifikationsresultate bei typenreinen Proben.....	101
6.3.3	Identifikationsresultate bei Mischungen mehrerer Typen	103
7	Ausblick	109
A	Abbildungsverzeichnis	113
B	Abkürzungsverzeichnis	116
C	Quellcode des Hauptprogramms	117
D	Quellcode der Zeitspuren.....	121
E	Quellcode der Ensemble-fluoreszenzlebensdauern	122
F	Quellcode der FCS und FCCS Bestimmung.....	124
G	Quellcode der Burstfindung	125
H	Quellcode der Burstcharakterisierung.....	127
I	Quellcode der Burstidentifikation	129
J	Quellcode der Burstsimulation	131
K	Quellcode der Bursthistogramme	132
L	Quellcode des Filterschreibens und -lesens	135
M	Quellcode der Grenzwertfindung	137
N	Literaturverzeichnis.....	138
	Danksagung.....	145
	Lebenslauf	146