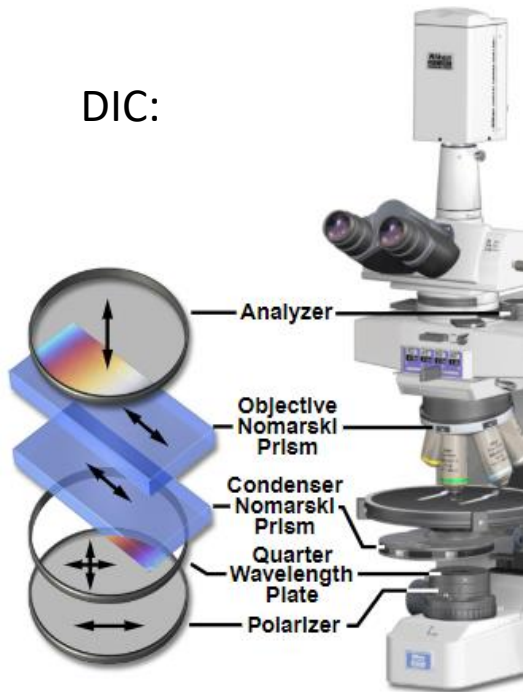
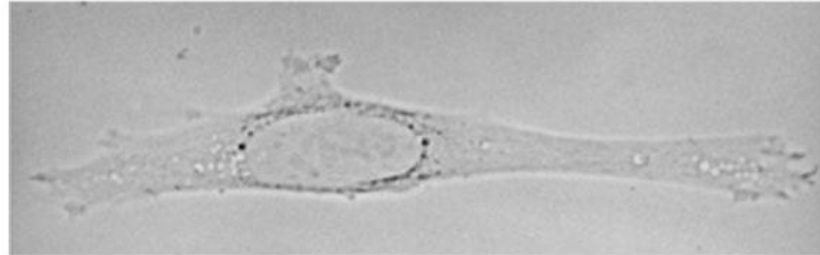


Dve nadgradnji presevnega mikroskopa

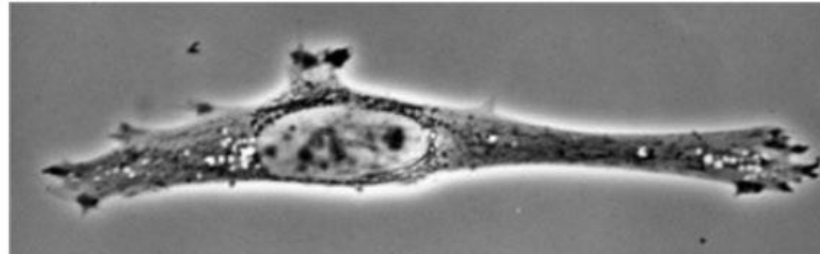
DIC:



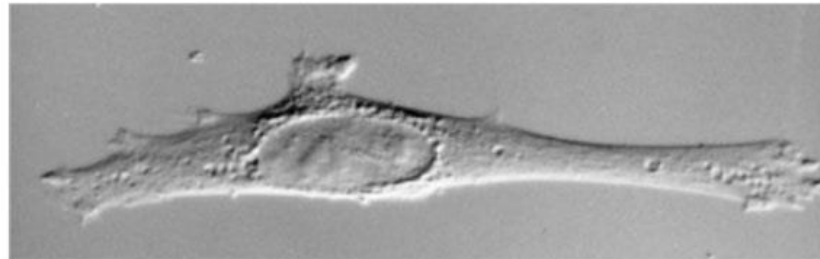
Bright Field



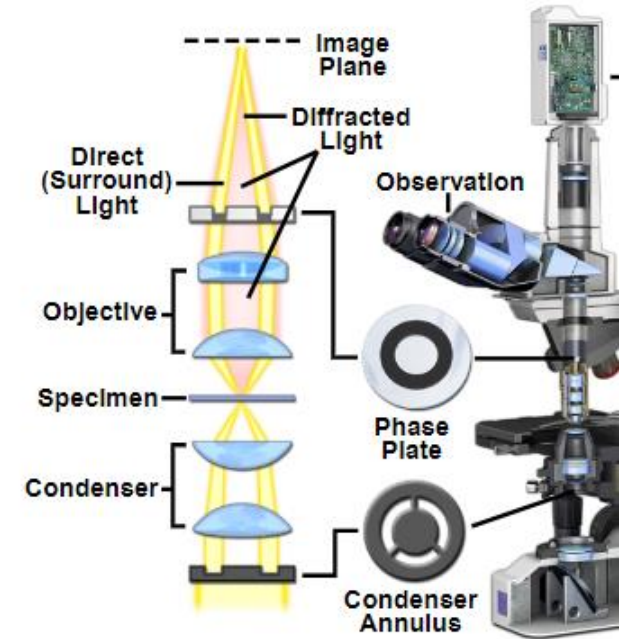
Phase Contrast




Differential Interference Contrast



PhC:



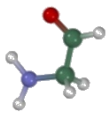


Določanje molekularnih struktur

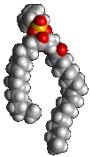
2. del - elektronska mikroskopija, sipanja, spektroskopije

Kako lahko opazujemo še manjše strukture?

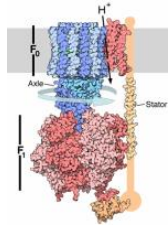
Medatomske vezi



Lipidi



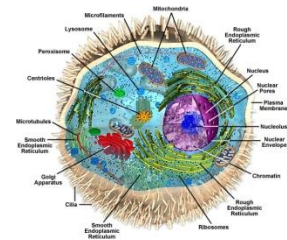
Proteini



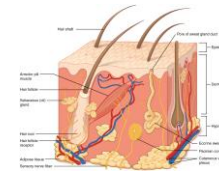
Kromosom



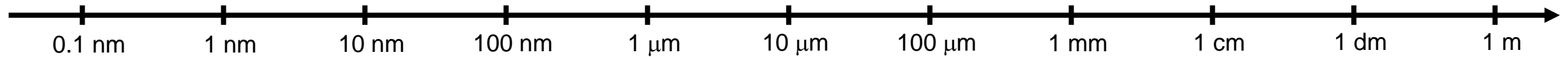
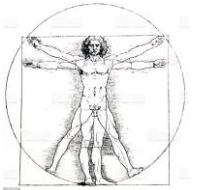
Evkariontska celica



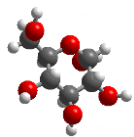
Tkiva



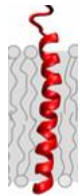
Telo



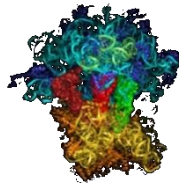
velikost



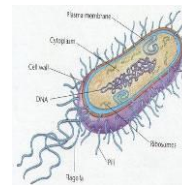
Monosaharidi,
aminokisline



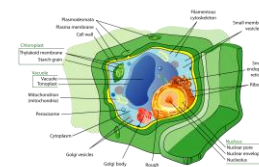
Trans-
membranska
vijačnica



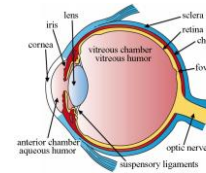
Ribosom



Bakterija



Rastlinska celica



Organi



vidno s prostim očesom

s svetlobnim mikroskopom

s super-ločljivim m.

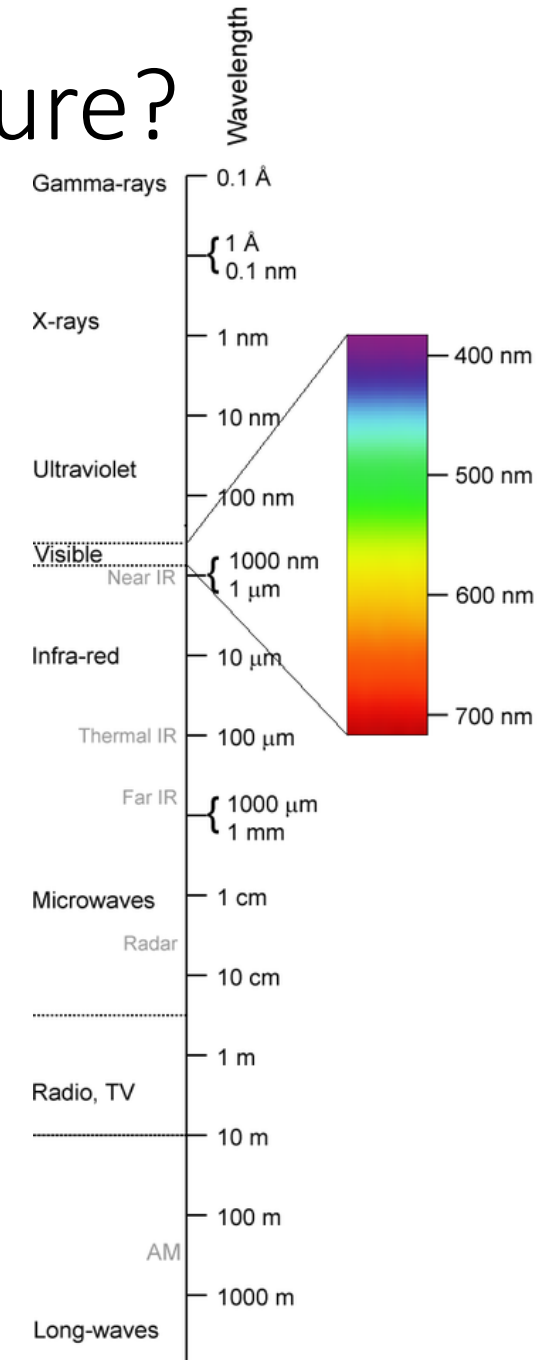
?

Kako lahko opazujemo molekularne strukture?

- „Slika“ ustvari interakcija svetlobe s snovjo: fotoni („delci svetlobe“) se od elektronov v snovi „odbijajo“ v vse smeri (= sipanje)
- Da lahko delce snovi razločimo na sliki, morajo biti razdalje med njimi primerljive ali večje od valovne dolžine svetlobe
→ Z vidno svetlobo ne ločimo struktur pod 200 nm
- Za opazovanje molekularnih struktur potrebujemo svetlobo s krajšo valovno dolžino ($\lambda \sim 0,1\text{--}10\text{ nm}$):

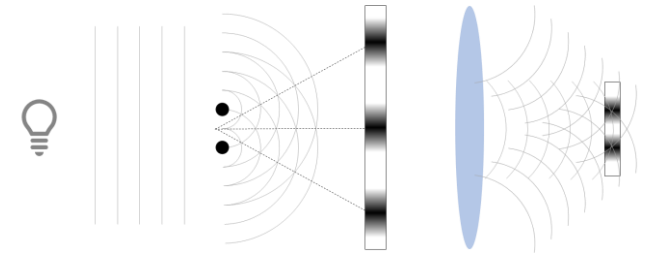
- Rentgenski žarki $\lambda = h c / E$
- Hitri delci (e, n): $\lambda = h / m v$ (de Broglie)

h .. Planckova konstanta $(6,6 \times 10^{-34} \text{ J s} = 4,1 \times 10^{-15} \text{ eV s})$
 c .. svetlobna hitrost $(3 \times 10^8 \text{ m/s})$



... z elektronskim mikroskopom

Namesto EM valovanja uporabimo hitre delce,
ki se obnašajo podobno!

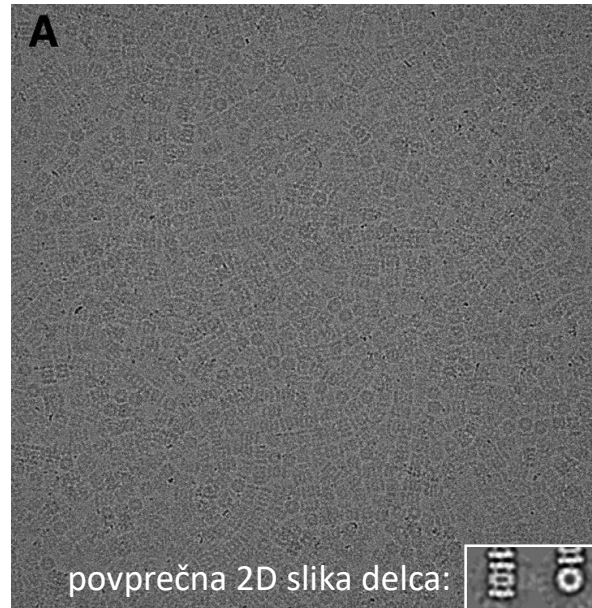


cryo-TEM

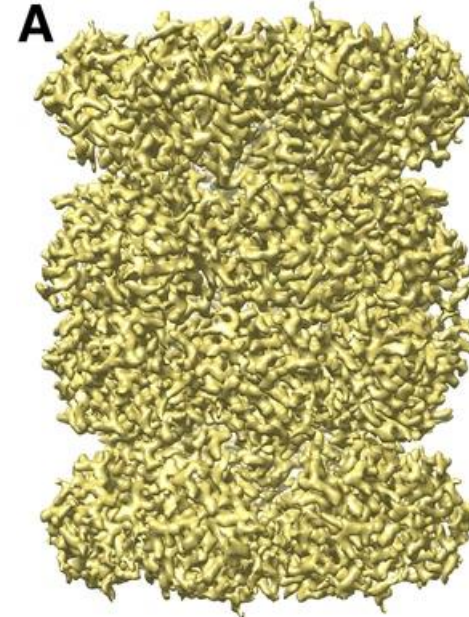


Kemijski Inštitut

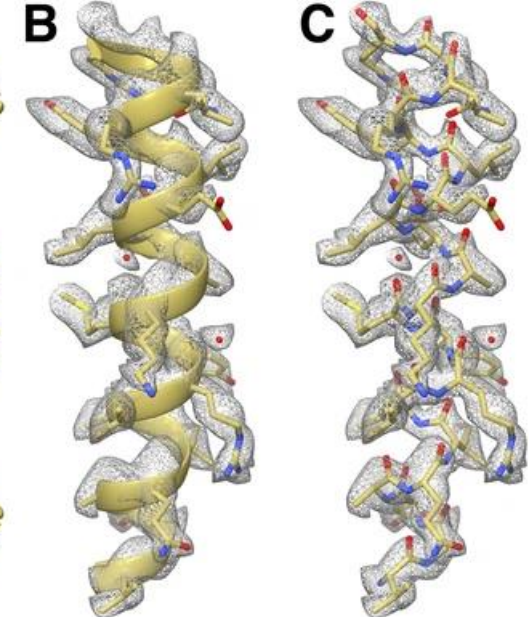
slika



3D elektronska gostota

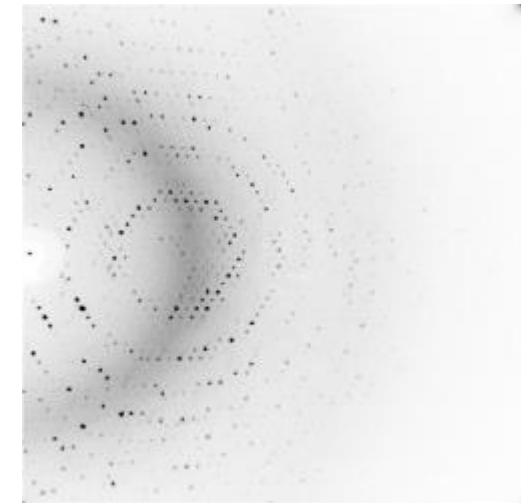
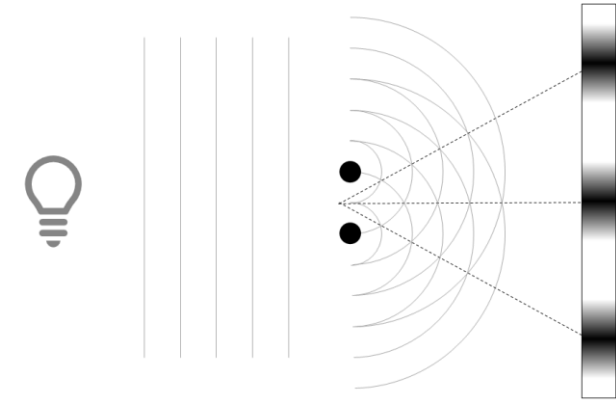


model strukture



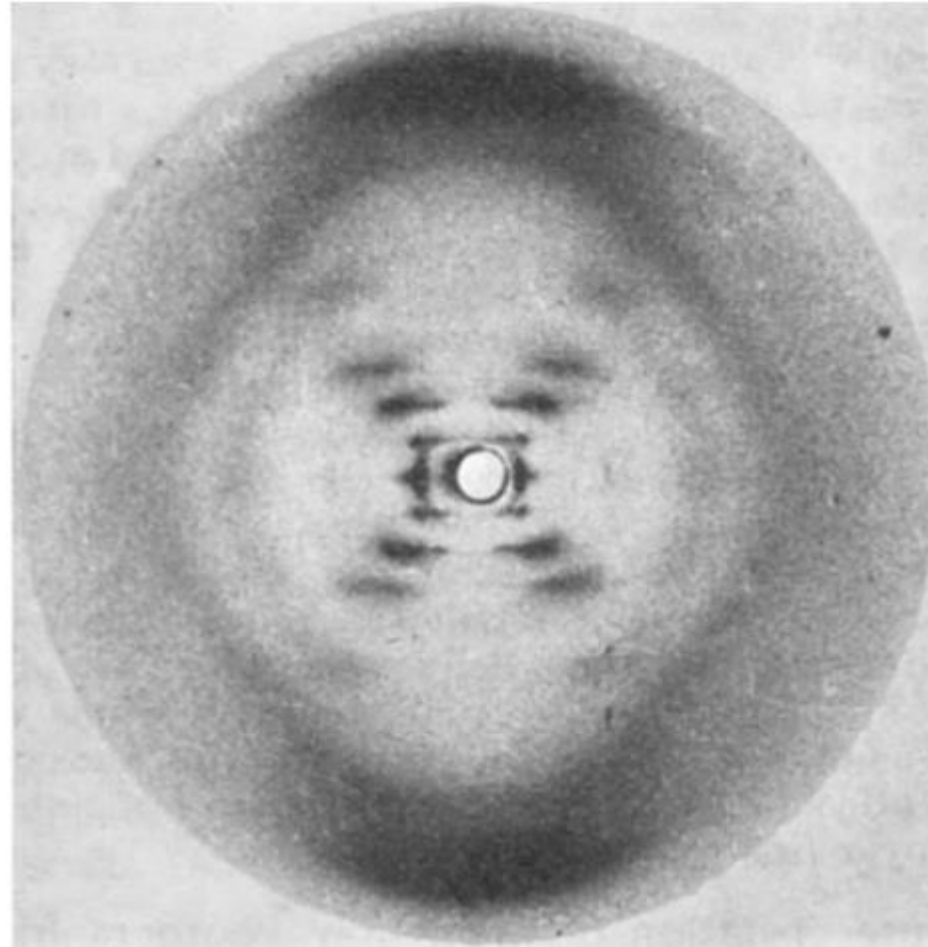
... s sipanjem rentgenske svetlobe

- Pri sipanju svetlobe na več delcih dobimo interferenčni vzorec
- Če se razdalje pravilno ponavljajo (kristal), so interferenčne ojačitve ostre
- Kakšna elektronska struktura je povzročila izmerjen interferenčni vzorec?

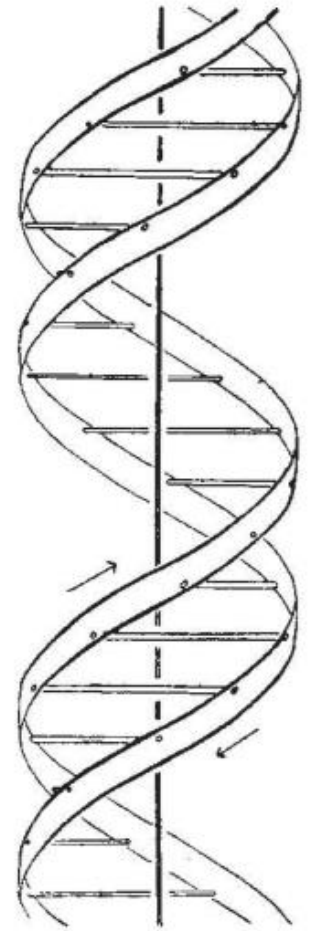


... s sipanjem rentgenske svetlobe

- Rentgenski interferenčni vzorec na kristalu DNA razkrije obliko dvojne vijačnice!
- **Rentgenska kristalografija** je do sedaj najuspešnejša metoda za določanje struktur proteinov!
 - + doseže ločljivost pod 0,1 nm
 - potrebna kristalizacija vzorca (red dolgega dosega ojači signal)



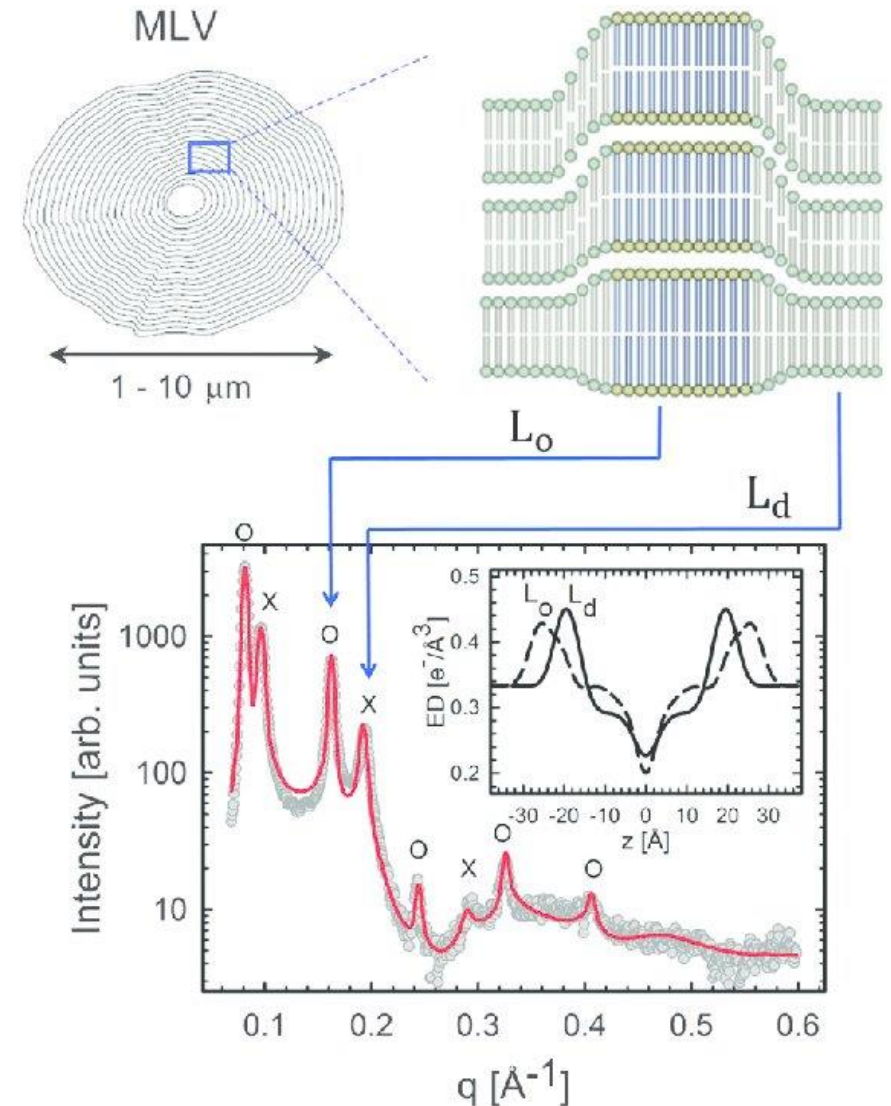
Franklin & Gosling *Nature* 1953



Watson & Crick *Nature* 1953

... s sipanjem rentgenske svetlobe pod ozkimi koti (SAXS)

- Ponavljajoče se dimenzije molekularnih struktur povzročijo interferenčne vrhove tudi v raztopini.
- Iz izračunanega profila elektronske gostote določimo značilne razdalje:
 - velikost micel
 - debelina membran
 - povprečne razdalje med molekulami
 - ...
- Podobno tudi z nevtroni (SANS)



... s spektroskopijami

- Merimo prenos energije vzbujenega stanja z enega dela molekule na drugi del
- Z EM valovanjem v vidnem, IR, MW ali RF delu spektra lahko merimo razdalje v molekuli z natančnostjo pod 0,1 nm!
- primeri:
 - FRET (fluorescence resonance energy transfer)
 - NOE (nuclear Overhauser effect)
 - ELDOR (electron-electron double resonance)

