

Szegedi Tudományegyetem  
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar  
Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

# **Fehérjék fotonikai alkalmazása**

**PhD téziszfüzet**

**Krekic Szilvia**

Témavezetők:

Dr. Dér András, DSc, tudományos tanácsadó

Dr. Heiner Zsuzsanna, tudományos tanácsadó

Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet  
Biomolekuláris Elektronikai Kutatócsoport

Szeged

2023

## Publikációs lista

### Az értekezés tárgyához közvetlenül kapcsolódó cikkek listája

- I. **Krekic, S.**; Nagy, D.; Taneva, S. G.; Fábíán, L.; Zimányi, L.; Dér, A. Spectrokinetic Characterization of Photoactive Yellow Protein Films for Integrated Optical Applications. *Eur. Biophys. J.* **2019**, *48* (5), 465–473. <https://doi.org/10.1007/s00249-019-01353-8>. IF: 2.012
- II. **Krekic, S.**; Zakar, T.; Gombos, Z.; Valkai, S.; Mero, M.; Zimányi, L.; Heiner, Z.; Dér, A. Nonlinear Optical Investigation of Microbial Chromoproteins. *Front. Plant Sci.* **2020**, *11*, 1567. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.547818>. IF: 5.753
- III. Petrovszki, D.; **Krekic, S.**; Valkai, S.; Heiner, Z.; Dér, A. All-Optical Switching Demonstrated with Photoactive Yellow Protein Films. *Biosensors* **2021**, *11* (11), 432. <https://doi.org/10.3390/bios11110432>. IF: 5.743
- IV. **Krekic, S.**; Mero, M.; Dér, A.; Heiner, Z. Ultrafast all-optical switching using doped chromoprotein films. *J. Phys. Chem. C* **2023**, *127* (3), 1499–1506. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c06232>. IF: 4.177\*
- V. **Krekic, S.**; Mero, M.; Kuhl, M.; Balasubramanian, K.; Dér, A.; Heiner, Z. PYP adsorption at hydrated polyethyleneimine and poly-L-glutamic acid interfaces. Elbírásál alatt az MDPI *Molecules* folyóiratnál, beküldve: 2023.04.07. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2023-zmtk4>. IF: 4.927\*

Az értekezés témájához közvetlenül kapcsolódó cikkek kumulatív impakt faktora: 22.612

### Az értekezés tárgyához közvetlenül nem kapcsolódó teljes tanulmányok listája

- I. Szekeres, G. P.; **Krekic, S.**; Miller, R. L.; Mero, M.; Pagel, K.; Heiner, Z. The interaction of chondroitin sulfate with a lipid monolayer observed by using nonlinear vibrational spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2021**, *23*, 13389-13395. <https://doi.org/10.1039/D1CP01975A>. IF: 3.945

Egyéb megjelent cikkek kumulatív impakt faktora: 3.945

\*2021-re vonatkozó IF

## 1. Bevezetés

A gyorsabb információátvitel és adatfeldolgozás iránti igény évről évre növekszik, ami olyan innovációk megvalósítását ösztönzi, amelyek megkerülnék az integrált elektronika miniaturizálással és hőhatásokkal kapcsolatos jelenlegi problémáit. Az egyik lehetséges megoldás a felmerülő problémákra fotonikai eszközök alkalmazása, mivel ideális esetben ezek tisztán optikai jellegűek, azaz működési sebességüket az áramkörben jelen lévő optikai folyamatok korlátozzák, mellőzve az elektronikus alkatrészek hátrányait. A tisztán optikai vagyis all-optical integrált optika (IO) a jelenleg elterjedt integrált elektronika megfelelője, azonban minden folyamat kizárólag optikai jellegű. Az IO kulcsfontosságú építőkövei olyan anyagok, amelyek megfelelő nemlineáris optikai (NLO) tulajdonságokkal rendelkeznek, amellyel megváltoztatják a fény terjedését, illetve optikai információt tárolhatnak. A fotonikus eszközök egyre inkább teret hódítanak a legkülönbözőbb tudományterületeken, mint például az optikai kommunikáció, adatfeldolgozás és -tárolás, holográfia, kvantumszámítástechnika stb., de további alkalmazhatóságuk jelenleg is széles körben kutatott. A kutatások egyik legnagyobb kihívást jelentő eleme olyan anyagok felfedezése vagy fejlesztése, amelyek alkalmazási célokra optimális NLO tulajdonságokkal rendelkeznek. Jelenleg számos anyag van kísérleti stádiumban ilyen céllal, azonban ezek közül még egy sem került alkalmazásba. A közelmúltban felmerült a  $\pi$ -konjugált elektronrendszereket tartalmazó biológiai anyagok alkalmazása is, mivel más, fejlesztés alatt álló anyaggal ellentétben könnyen hozzáférhetőek. Számos organizmus tartalmaz fényérzékelő és energiaátalakító kromoproteineket, amelyek több millió éves evolúció során tökéletesedtek e célokra - így elméletileg ideális jelöltek lehetnek az IO-ban betöltött hasonló feladatra. IO-aktív anyagként egy ígéretes jelölt a fotoaktív sárga fehérje (PYP). Mielőtt azonban fotonikai alkalmazásra kerülhetne sor, figyelembe kell vennünk a vizsgált anyag mechanikai stabilitását és NLO tulajdonságait, amelyek a környezetnek megfelelően változhatnak, elkerülhetlenné téve az aktív komponensek teljes NLO jellemzést és optimalizálást.

A fotoaktív sárga fehérje egy viszonylag kicsi - 14 kDa molekulatömegű, 125 aminosavból álló - vízzoldékony fehérje, amely a bíborszínű kénbaktériumokban található. A PYP a Per-Arnt-Sim (PAS-) domén szupercsaládba tartozik, amely egy prokarióta és eukarióta szervezetekben elforduló  $\alpha/\beta$  jelátviteli szerkezet. Fénygerjesztés során a PYP kromofórja egy reverzibilis transz-cisz izomerizáción esik át, amelyet követően a PYP több kvázistabil köztesállapoton megy keresztül, mielőtt deizomerizálódik, és visszatér az alapállapotába. Ezt a reakciósémát a fehérje fotociklusának is nevezik. Általában a fotociklus három fő spektrálisan

különböző intermedierből áll - a PYP alapállapotának (pG) abszorpciós maximuma 445 nm-nél van, amely gerjesztéskor először egy vörös eltolódású intermedierré (pR), majd egy kék eltolódású köztes állapottá (pB) alakul át. Méretéből és vízdoldhatóságából adódóan a PYP ígéretes aktív komponens IO alkalmazásokhoz, azonban a felhasználás szempontjából az intermedierek abszorpciós spektrumainak változásait kísérő törésmutató-spektrumok változása a legfontosabb tényező. A PYP nemlineáris tulajdonságainak széleskörű vizsgálatához a disszertáció során különböző optikai módszereket alkalmaztam, mint például a Z-scan, vagy a szélessávú vibrációs összegfrekvencia-keltési spektroszkópia (VSFG).

A glicerinnel dúsított (GL-PYP) filmek nemlineáris optikai tulajdonságainak jellemzésére az egysugaras Z-scan technikát alkalmaztuk. A Z-scan mérés során a vizsgált mintát egy Gauss-os nyaláb fókuszán keresztül mozgatjuk az optikai tengely mentén, miközben a minta aktuális helyzetének (z) függvényében az áteresztett teljesítményt vagy energiát a fókusz mögött a távoli mezőben elhelyezett apertúrán keresztül mérjük. A szkennelés történhet nyitott (OA) vagy zárt apertúrával (CA): az OA mérés a nemlineáris abszorpciós együtthatókról ad információt, míg a zárt, vagy kis apertúrájú mérés az  $n_2$  nemlineáris törésmutató-komponens előjelét és nagyságát adja meg. A módszer egyszerűsége, de nagyfokú flexibilitása miatt ezt a módszert választottuk a GL-PYP nemlineáris törésmutatójának megfigyelésére különböző intenzitású pumpa-lézerimpulzusok és ismétlési frekvenciák esetén.

Az IO miniaturizálási követelményének megoldásához elengedhetetlen a PYP olyan formában történő használata, amely nem akadályozza az IO-eszközök skálázhatóságát. A kvázi-monorétegben adszorbeált PYP szerkezetének és orientációjának vizsgálatához VSFG spektroszkópiát használtam. A VSFG egy másodrendű, felületérzékeny lézerspektroszkópiai módszer, amely ideális két centroszimmetrikus vagy véletlenszerűen orientált közeg közötti határfelületeken található molekulák orientációjának, szerkezetének és dinamikájának tanulmányozására.

Végezetül, a PYP kapcsolási képességének demonstrálására Mach-Zehnder interferométerre (MZI) épülő kapcsolást, valamint tranziens rácsos (TG-) spektroszkópiát használtam munkám során. Mindkét technika a mintában bekövetkező törésmutató-változásra, és a fényinterferencia jelenségére épít, bár eltérő módon. A két technika együttes alkalmazásával részletesebb képet lehet kapni a PYP IO alkalmazhatóságáról.

## Célkitűzések

A disszertáció fő kérdésfelvetése, hogy a PYP használható-e mint aktív kapcsoló komponens IO áramkörökben. A kérdés megválaszolásához a munkámban előkísérleteket végeztem, amelyek során a PYP különböző tulajdonságait vizsgáltam, illetve előzetes kapcsolási kísérleteket végeztem glicerinnel adalékolt PYP rétegeken.

1. Első pontként célom volt, hogy a PYP filmek fotociklusának lecsengését nyomonkövessem különböző páratartalmú környezetben. Mivel az száraz PYP filmek nem bizonyultak jó optikai minőségűeknek, ezért adalékanyagként glicerint adtam az oldatban levő fehérjéhez filmkészítés előtt. Glicerines PYP (GL-PYP) mintákon az egyes intermedierek időbeli lecsengését vizsgáltam, ezzel információt szerezve a fotociklus kinetikájáról.
2. A PYP-fotociklus kinetikájának megismerése után a célom GL-PYP filmek lineáris és nemlineáris törésmutatójának tanulmányozása volt. Ez optikai-hullámvezető fénymódus-spektroszkópiával (OWLS) és Z-scan technikával történt.
3. A PYP filmek potenciális miniaturizálásának vizsgálatához, és annak érdekében, hogy homogén fehérje-monorétegeket hozhassunk létre szilárd szubsztrátokon további IO alkalmazásokhoz, a PYP monorétegek szerkezetét egy és több polielektrolit rétegre adszorbeálva vizsgáltam VSFG spektroszkópiával.
4. Végül a GL-PYP-filmek szerkezeti, kinetikai és anyagi tulajdonságainak tanulmányozása után célom az volt, hogy a PYP lassú kinetikájú köztesállapotait kihasználva IO-kapcsolást mutassak be egy Mach-Zehnder interferométer segítségével. A PYP fotociklusának elején lévő gyors kinetikájú (10 ps élettartamú) intermedierek felhasználásával további célom volt ultragyors all-optical kapcsolás demonstrálása is TG spektroszkópiával.

## 2. Anyagok és módszerek

### Film előkészítése

A mérések során két különböző típusú filmkészítési eljárást alkalmaztunk. A PYP fotociklus-kinetikájának és törésmutatójának mérésénél az oldatban levő fehérjéhez filmkészítés előtt glicerint adtunk adalékanyagként, míg a VSFG méréseknél az alkalmazott többrétegű struktúrát layer-by-layer (LbL) technikával építettük fel.

Az IO-alkalmazásokhoz használt fehérjefilmek optimalizálásának egyik legfontosabb követelménye, hogy a filmek magas optikai minőséggel kell hogy rendelkezzenek. A PYP-filmek szárításakor a felületen keletkező repedések elkerülése végett a mintákhoz glicerint adtunk, ami segít megőrizni a filmek homogenitását, miközben stabilizálta a mintákon belüli relatív páratartalmat is. A minták előállításához a PYP szuszpenziókat 87%-os glicerindattal kevertük össze, úgy hogy a glicerint a keverék 2% -át tegye ki. A keverékeket 1-2 percig ultrahanggal kezeltük, majd – az elvégzett méréstől függő – felületre pipettáztuk, ezután pedig legalább 12 órán át hagytuk száradni egy elszívófülke alatt. A Z-scan és a TG kísérleteknél a filmeket két 200 µm vastag mikroszkóp-fedőlemez közé szorítottuk, míg a fedőlemezek közötti távolság 200 µm volt, ezzel stabilizálva a GL-PYP film vastagságát. Az OWLS méréseknél, az abszorpciókinetikai kísérleteknél, és a lassú optikai kapcsolás demonstrálásakor a fehérje-glicerint keverékeket hasonlóan állítottuk elő, azonban a filmeket nem fixáltuk fedőlemezekkel. A környezet relatív páratartalmát minden kísérlet során 33%-on, míg a hőmérsékletet 23°C-on tartottuk.

A VSFG méréseknél a PYP monoréteg egy LbL technikával készített többrétegű polielektrolit rétegre lett adszorbeálva. A polielektrolit többrétegek elkészítéséhez pozitív töltésű polietilénimint (PEI, elágazó típusú) és a poli-L-lizint (PLL) használtunk, továbbá negatív töltéssel rendelkező poli-L-glutaminsavat (PGA). A polielektrolitokat a Sigma-Aldrich-től vásároltuk, molekulatömegük 600000-1000000 (elágazó PEI oldat, vízben koncentrációja ~50%), 50000-100000 (PGA nátriumsó) és >30000 (PLL hidroklorid). A méréseket hat különböző felületen végeztük – PEI, PEI+PGA, (PEI+(PGA+PLL)<sub>6,5</sub>) polielektrolit, illetve ezekre a rétegekre adszorbeált PYP rétegeken. Az elkészített PEI törzsoldat koncentrációja 5 mg/ml volt, míg a PGA és PLL oldatok koncentrációja 1 mg/ml. A törzsoldatokat CaF<sub>2</sub> ablakokra permeteztünk egy réteg PEI-vel kezdve, majd PGA és PLL között váltogattuk 6,5 réteggig, PGA réteggel befejezve. A méréseket magas (~80%) RH értéken végeztük, azonban további méréseket végeztünk 3% és 100%-on az amid régióban, hogy figyelemmel kísérjük páratartalom eltolódása miatt bekövetkező szerkezeti változásokat. A minták újrafelhasználása

esetén a mintákat mérések előtt egy órára 100%-os RH környezetbe helyeztük a megfelelő hidratáció biztosítása érdekében.

### **Kinetikus abszorpciós spektroszkópia**

Egy házilag épített pumpa-próba mérőelrendezéssel időfelbontott abszorpciós spektrumokat mértünk a GL-PYP filmekben, hogy nyomon kövessük, hogyan változik a PYP fotociklusa ha a mintához glicerint adunk. Az alkalmazott pumpaforrás egy Surelite II Nd:YAG lézer volt OPO kiterjesztéssel (Continuum, USA), amely 445 nm-es hullámhosszra volt állítva, 2,80 mJ impulzusenergiával a PYP alapállapotának gerjesztéséhez. A próbafény polarizálatlan 35 W-os nagy nyomású xenonlámpa (Hamamatsu, Japán) kollimált nyalábja volt, melynek hullámhosszát keskenysávú interferenciaszűrők segítségével beszűkítettük. A pumpa- és a próbanyaláb térben átfedtek a mintán. Az alkalmazott ismétlési frekvencia 0,1 Hz volt. A fotoelektron-sokszorozó (PMT, Hamamatsu, Japán) kimeneti jeleit házilag készített áram-feszültség átalakítóval figyeltük.

Az elrendezéssel további kísérleteket végeztünk annak érdekében, hogy megvizsgáljuk, hogy hosszabb CW gerjesztés során milyen a kialakult intermedier-keverék abszorpciós spektruma. A próbafény intenzitását szürke (ND) szűrőkkel csökkentettük, míg a CW-gerjesztéshez 410 nm-es 40 mW-os lézerdiodát használtunk, amely minden mérés megkezdése előtt 10 másodpercig világította meg a mintát. A spektrumokat iStar ICCD detektorral (Andor Technology, Egyesült Királyság) felszerelt spektrográffal detektáltuk.

### **OWLS mérések**

Az OWLS mérések során a fehérje törésmutatója megállapítható a mintán áthaladó próbafény beesési szögének nagy pontosságú mérésével, és a háromrétegű hullámvezető módusegyenleteinek felhasználásával. A kísérletekben üvegszubsztráton létrehozott, 1-mm széles ráccsal csatolt Si(Ti)O<sub>2</sub> síkhullámvezetőket ( $n_s=1,53$ ) használtunk, amelyek vonalsűrűsége 2400 mm<sup>-1</sup>, törésmutatója 1,78-1,80 között volt (MicroVacuum Kft.). A hullámvezetőket egy rotációs asztalra (DPS, Ealing Electro Optics) rögzítettük. Az alkalmazott pumpanyaláb egy 543 nm-es He-Ne lézer (Melles Griot) fénye volt. A pumpanyaláb beesési szögét 10<sup>-4</sup>-es pontossággal lehetett mérni. A becsatolt fény intenzitását a hullámvezető végén lévő PMT mérte, majd a feszültségerősítővel felerősített jelet digitális oszcilloszkóppal (LeCroy 9310-L) rögzítettük.

## Z-scan

A felhasznált lézerforrás egy kereskedelmi forgalomban kapható Yb:KGd(WO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> lézeroszcillátor-erősítő rendszer volt, amely 1028 nm-es központi hullámhosszon működött, 100 kHz-ig állítható lézerismétlési frekvenciával. A mintát lineárisan polarizált 82 fs-os, 514 nm-es impulzusokkal vizsgáltuk, amelyeket másodharmonikus keltéssel állítottunk elő. A fókuszált Gauss-nyaláb sugarát 37 μm-re állítottuk be, míg a nyaláb M<sup>2</sup> értékére mind vízszintes, mind függőleges síkban ≤1,1-et mértük. Ugyanezt a mérési elrendezést használtuk folytonos lézerrel történő Z-scan mérésekhez is. A CW mérésekhez egy 405 nm-en működő egymódusú TEM<sub>00</sub>, hőmérséklet-stabilizált diódalézert alkalmaztunk. Ebben az esetben a Gauss-nyaláb sugarát 36,6 μm-nek mértük. Minden mérést egy nyalábprofil detektáló kamerával végeztünk, amelyből a jellegzetes Z-scan görbét digitális jelfeldolgozás segítségével állítottuk elő. A nyílt-apertúras jel mérésekor összeadtuk a kamera összes pixelének intenzitásértékét a minta aktuális z helyzetének függvényében, míg a zárt-apertúras jel esetén egy előre meghatározott 2D pixelterületen (amelynek középpontjában a nyalábprofil közepe állt) vizsgáltuk a pixelintenzitást a z pozíció függvényében.

## Szélessávú összegfrekvencia-keltési spektroszkópia

Az alkalmazott pumpalézerforrás egy Yb:KGd(WO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> lézeroszcillátor-erősítő rendszer volt, amelyből mind a femtoszekundumos közép-infravörös (MIR), mind pedig a pikoszekundumos látható (VIS) lézerimpulzusokat előállítottuk. A hangolható MIR-nyalábot a 2725-3825 cm<sup>-1</sup> vagy az 1400-1700 cm<sup>-1</sup> spektrális tartományban használtuk; míg a második nyalábbal kvázi-monokromatikus lézerimpulzusokat generáltunk 514 nm-en. A mérés során egy házilag épített szűrőberendezés biztosította, hogy a MIR légköri abszorpciója minimális legyen. Az alkalmazott VIS lézerimpulzusok energiája 4 μJ volt, míg a MIR impulzusok 1267, 2980 és 3455 cm<sup>-1</sup> központi frekvenciákon 0,2, 0,7 és 0,7 μJ-osak voltak a mintán. A VSFG spektrumokat egy Peltier-hűtésű CCD-vel ellátott spektrométerrel (Horiba, Ltd., Japán) rögzítettük. Az elrendezés spektrális felbontása ~3 cm<sup>-1</sup> volt. A VSFG spektrumok négy különböző spektrális tartományban lettek mérve - C-H, N-H és O-H nyújtási tartományon és az amid I régióban -, illetve két akirális (PPP és SSP) és három királis (SPP, PSP, PPS) polarizációs kombinációban. Az egyes spektrumok rögzítésének időtartama a spektrális régiótól és a polarizációs kombinációtól függően 10 s-tól 120 s-ig terjedt. Minden mérést közel teljesvisszaverődés-geometriában végeztünk. A mintákat egy házi készítésű mintatartóba helyeztük a mérés során, amely biztosította a magas relatív páratartalmat, illetve a 23°C-on



stabilizált hőmérsékletet. A mért spektrumokat végül Lorentz-komponensekkel illesztésével modelleztük, hogy a rezgési módusok helyzetét és intenzitását pontosan meghatározzuk, amely elengedhetetlen a spektrumok értelmezéséhez.

## **Optikai kapcsolás**

### ***Kapcsolás IO Mach–Zehnder interferométerrel***

Egy zöld lézerdíóda fényét (532 nm, 50 mW, Roithner, Ausztria) egymódusú optikai szál (S630-HP, Thorlabs GmbH, Németország) segítségével becsatoltunk egy egymódusú, házi készítésű MZI-be. Az optikai szálát egy mikropozicionálóval (DC-3K, Märzhäuser Wetzlar GmbH & Co. KG, Németország) illesztettük az MZI bemenetére, majd fotopolimer ragasztóval (OP-66-LS, Dymax Europe GmbH, Németország) rögzítettük. A GL-PYP törzsoldatot ~1 mm átmérőjű cseppeket alkotva pipettáztuk az interferométer mindkét karjára, és ezeket a mérések elvégzése előtt száradni hagytuk. A PYP fotociklusában a különböző intermedierek gerjesztéséhez két CW lézert használtunk ( $\lambda = 445$  nm és 405 nm), amelyek intenzitása 4,44 mW, illetve 21,7 mW volt a mintán. A gerjesztés időtartamát 2 és 14 másodperc között változtattuk. Az MZI munkapontját fűtőszállal hangoltuk, amelyre kapcsolt feszültséget 0-4,6 V között változtattuk változó egyenáramú tápegységgel (VLP 2403pro, Konrad Electronics, Németország). A mérések során a környezet hőmérséklete 23 °C volt, a relatív páratartalom 33%.

### ***Ultragyors kapcsolás tranziensrács-technikával demonstrálva***

Az ultragyors TG-kísérletekhez ugyanazt a 6 W-os Yb:KGd(WO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> lézerrendszert használtuk, mint a VSFG spektroszkópiához és a Z-scan mérésekhez. A kísérletek során a BOXCARS geometria egyszerűsített változatát használtuk. Az alkalmazott pumpaimpulzus 450 nm vagy 480 nm volt, ezek 1 Hz-es ismétlési frekvenciával gerjesztették a mintát. A pumpaimpulzusokat egy 50 mm-es akromát lencsével fókuszáltuk a mintára a tranziens rács létrehozásához, amelyek a mintában térben és időben átfedtek. A próbaimpulzust – amelynek központi hullámhossza 514 nm volt – 20 fs-os lépésekben késleltettük a gerjesztő impulzusokhoz képest, egy translációs asztal segítségével. Az impulzusok hossza 160 fs volt. Az időfüggő diffraktált próbajeleket egy kimeneti maszk segítségével térben elválasztottuk a beeső sugartól, és egy miniatűr száloptikai spektrométerrel (Ocean Optics, USB2000+, USA) detektáltuk -0,8 és 10 ps közötti időtartományban.

### 3. Eredmények és megbeszélés

#### A glicerinnel adalékolt PYP film fotociklusa

A minta glicerinkoncentrációja alapján úgy becsülhető, hogy a minta belsejében lévő víz koncentrációja megegyezik a 80%-os RH környezetben elhelyezett, glicerinmentes PYP-filmével, azonban a GL-PYP-film jelentősen lassabb fotociklussal rendelkezik. Ez inkább viszkozitási hatásoknak tulajdonítható, mint a vízszerkezet által közvetített kozmotróp hatásoknak, amelyek a nyílt konformációk - mint például a pB intermedier - destabilizálásával gyorsítanák a fotociklust.

A differencia-abszorpciós mérések tanúsága szerint 10 s-os, 410 nm-es, 40 mW-os CW diódalézerrel történő megvilágítás után a fehérjék nagyrésze a pB állapotban tartózkodik, ezért feltételezhetjük, hogy a minta ilyenkor a pB- és a kezdeti állapotú PYP-molekulák egyensúlyi keverékéből áll. A kialakult köztesállapotok aránya függ a Z-scan és a kapcsolási kísérletek során alkalmazott átlagos gerjesztő fényintenzitástól, amit – a specifikus mérési körülmények esetén érvényes –egyszerűsített fotociklus-séma alapján minden esetben figyelembe kell vennünk.

#### PYP film lineáris és nemlineáris törésmutatójának meghatározása

A PYP minta  $\Delta n$  és  $n_2$  értékeinek a Z-scan kísérletekből történő sikeres meghatározásához elengedhetetlen a GL-PYP film lineáris törésmutatójának megállapítása. Az OWLS módszer alkalmazásával nagyfelbontású szkenneléseket végeztünk a beesési szög mérésével abban a tartományban, ahol a fényt a hullámvezető belsejébe lehetett csatolni. A méréseket először minta nélküli hullámvezetővel végeztük, majd ugyanezt a hullámvezetőt PYP-filmmel vontuk be. Az alkalmazott 543 nm-es próbahullámhossz mellett a PYP lineáris törésmutatóját 1,460-nak mértük, amely értéket ezután a Z-scan kísérletek kiértékelésének alapjául használtuk.

A Z-scan kísérleteket több különböző átlagos- és csúcsintenzitással, ismétlési frekvenciával, valamint CW-gerjesztéssel is végrehajtottuk, hogy jellemezzük azok hatását a PYP nemlineáris törésmutatójára. Megállapítottuk, hogy a nemlineáris törésmutatót inkább az alkalmazott lézerpulzus átlagos intenzitása, mint csúcsintenzitása határozza meg. Abban az esetben, ha az átlagos intenzitás a 0,1 és 1 W/cm<sup>2</sup> közötti tartományban van, az  $n_2$  értékek 10<sup>-3</sup> és 10<sup>-4</sup> cm<sup>2</sup>/W közé esnek. Alacsony átlagos intenzitások, azaz <0,1 W/cm<sup>2</sup> esetén az általunk kapott  $\Delta n$  értékek 10<sup>-4</sup> körül mozognak, amely érték összehasonlítható a legjobb nemlineáris optikai szilárdtest anyagokéval.

## **Orientált PYP filmek vizsgálata**

A PYP polielektrolit filmekben való adszorpciós tulajdonságainak vizsgálatára királis és akirális VSFG spektroszkópiát alkalmaztunk. A PYP királis VSFG spektrumát többrétegű polielektrolit filmekben is megmértük, hogy figyelemmel kísérjük a páratartalom hatását az adszorbeált PYP rétegre. A rezgési módusok amplitúdójának növekedéséből és a sáv szélességek csökkenéséből megállapítottuk, hogy a többrétegű polielektrolit filmek alkalmazása sokkal homogénebb felületi réteget eredményez. A királis spektrumok analíziséből a PYP  $\beta$ -szerkezetéről nyerhetünk információt, míg az akirális jel nem hordoz a fehérjére specifikus információt.

Királis VSFG esetében, ha a PYP negatív töltésű PGA rétegre adszorbeált, az N-H nyújtási módus vöröseltolódást mutatott a PEI+PYP-ben detektált értékhez képest. A relatív vöröseltolódás a PGA+PYP esetben arra utal, hogy a PYP nagyobb mértékben tartja meg harmadlagos szerkezetét a PGA-val való kölcsönhatás során, mint a PEI-vel. Az is megállapítást nyert, hogy alacsony páratartalomnál kisebbfajta denaturáció következik be a fehérjében, azaz kimutatható a harmadlagos szerkezet részleges elvesztése. Ezen esetben a PYP elveszíti a külső vízburkát, ami az  $1500\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$  tartományban az amid I és II sávok változásában figyelhető meg.

## **Optikai kapcsolat**

A GL-PYP optikai kapcsolatát két technikával mutattuk be a fehérje fotociklusának különböző köztesállapotait felhasználva. Először az MZI felhasználásával történő kapcsolást demonstráltuk, az interferométer karjain lévő minta folytonos megvilágításával befolyásolva az interferométer kimenetén mért intenzitást. Két különböző gerjesztési hullámhossz egyidejű alkalmazásával a PYP-et először a  $445\text{ nm}$ -es CW gerjesztéssel a pB intermedierbe toltuk, majd a teljes fotociklust lerövidítettük a  $405\text{ nm}$ -es CW lézerrel történő megvilágításával, amely a felhalmozott pB intermedierre irányult és visszalökte a fehérjét az alapállapotába. A második gerjesztés nemcsak gyorsabban visszavezette a fehérjét az alapállapotba, mint a pB állapot szokványos lecsengése, hanem lehetővé tette a fénykapcsolás további szabályozását is.

Az ultragyors, teljesen optikai elven működő kapcsolást a GL-PYP filmekben TG-technikával demonstráltuk, BOXCARS geometriát használva. A filmekben a lézer által kiváltott koncentrációs rács időbeli változását  $10\text{ ps}$ -ig követtük nyomon, miközben  $450\text{ nm}$  vagy  $480\text{ nm}$  hullámhosszú pumpa-impulzusokat alkalmaztunk. A gerjesztési hullámhossz drasztikus hatással van a kapcsolási időre, mivel a Franck-Condon állapotból az alapállapotba létrejövő stimulált emisszió változó mértékben van jelen különböző hullámhosszaknál. A

diffraktált próbanyaláb időfüggő intenzitását csatolt sebességegyenletekkel modelleztük. Ebből megállapítottuk, hogy a PYP fotociklus-modelljének korai szakaszait ki kell bővíteni a kísérletek és az elmélet közötti jobb megfeleltetés érdekében. Kísérleteink alapján kijelenthető, hogy a PYP-filmek segítségével szub-ps időskálán lehetséges teljesen optikai logikai alkatrészek létrehozása, ami THz-es kapcsolási sebességet jelent. További méréseket végeztük CW gerjesztés bevonásával is. A minta kifakítására, és annak a fotociklus dinamikájára gyakorolt hatásának vizsgálatára 405 nm-es CW gerjesztést alkalmaztunk, különböző lézerintenzitásokkal. A diffraktált próbaimpulzus intenzitása a CW-gerjesztés intenzitásának növelésével monoton csökkent. Méréseink alapján várható, hogy a pumpa-lézerimpulzus további vöröseltolódásával a diffraktált jel várhatóan teljesen megszűnik.

#### **4. Összefoglalás**

A disszertáció célja a fotoaktív sárga fehérjével készült filmek vizsgálata volt, lehetséges jövőbeni integrált optikai alkalmazhatóságuk szempontjából. A téma alapos vizsgálata érdekében a dolgozat első részében adalékolt PYP-filmeket vizsgáltam különböző spektroszkópiai módszerekkel, hogy nyomon kövessem a fotociklus során a fényel-történő gerjesztés hatására bekövetkező változásokat. Korábban kimutatták, hogy magas relatív páratartalom mellett az adalékoltatlan PYP-filmek fotociklusa hasonló az oldatban lévő fehérje fotociklusához, azonban ahhoz, hogy a PYP IO-ban alkalmazható legyen, a készített filmekhez adalékanyag hozzáadása szükséges, hogy azok megőrizzék optikai homogenitásukat. A PYP-filmek készítésekor a glicerint választottam adalékanyagnak.

A jelenleg használt integrált elektronikai eszközöknél a további miniaturizálhatóság témája sürgető kérdés, és az IO is ugyanilyen közelgő problémákkal néz szembe. Bár a fehérjék alkalmazása jó alternatívát kínál, a passzív struktúráknak is skálázhatónak kell lenniük, ami felveti a kérdést, hogy készíthetőek-e a monoréteg-vastagsághoz közeli PYP-filmek. Dolgozatomban ezt a lehetőséget vizsgáltam királis és akirális VSFG spektroszkópiával PEI és PGA-ra adszorbeáltatott PYP filmekkel. Bár a polielektrolit rétegek tetején lévő PYP vizsgálatának eredeti oka inkább az IO alkalmazhatósága volt, értékes alapkutatói eredmények is születtek.

A tézis harmadik részében a GL-PYP filmen optikai kapcsolást mutattam be MZI-vel, illetve ultragyors optikai kapcsolást TG spektroszkópiával. Ezek a technikák a fehérje fotociklusának különböző köztesállapotaira építettek, és a PYP különböző időskálákon történő kapcsolási képességének bemutatására szolgáltak. Az MZI-kísérletek során sikerült kimutatni,

hogy különböző gerjesztési hullámhosszok alkalmazásával a fotociklus rövidre zárható, ami gyorsabb kapcsolásra ad lehetőséget. A TG kísérletek során a gerjesztési hullámhossz drasztikus hatással volt a kapcsolási időre. Az eredmények azt mutatják, hogy a PYP-filmek felhasználásával létrehozhatóak a szubpikoszekundumos időskálán működő, teljesen optikai alapú logikai komponensek, amelyek THz-es kapcsolási sebességet tesznek lehetővé.

A disszertációban összefoglalt eredmények alapján elmondható, hogy a GL-PYP filmek alkalmasak aktív anyagként való felhasználásra az IO alkalmazásokban. A PYP-film előállítás olcsó, és nagy törésmutató-változással rendelkezik; mindeközben a fehérje vízdékony, és elég kicsi ahhoz, hogy könnyen kombinálható legyen nanoméretű struktúrákkal. A PYP-film glicerinnel történő adalékolása emellett fenntartja a készített rétegek magas optikai minőségét és fehérjekoncentrációját, megakadályozva a repedésképződést, és lehetővé téve a fotociklus lejátszódását még alacsony páratartalmú környezetben is.

További gyakorlati alkalmazásokhoz nagy ismétlési frekvenciájú kapcsolási kísérleteket kell végezni. Ez történhet például a fotociklus elején levő intermedierek fényérzékenységének kihasználásával és a fotociklus rövidrezárásával, hasonlóan az MZI-vel végzett kapcsolási kísérletekhez. Egy másik megvalósítási módja a nagy ismétlési frekvenciájú kapcsolásnak a PYP kromofórjának kémiai módosítása lehet – a p-kumarinsav hidroxilamin-kezeléssel történő eltávolítása, majd a fehérje-pigment-komplex nem izomerizálható megfelelőjének helyettesítésével.