

NANOTECHNOLÓGIA A BIOLÓGIÁBAN

Vámosi György

PhD., MTA-DE Sejtbiofizikai Kutatócsoport

Győrffi Miklós

EU DG Research szakértő
DE OEC¹ Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Bodnár Andrea

PhD., MTA-DE Sejtbiofizikai Kutatócsoport

Bene László

PhD., DE OEC
Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Damjanovich Sándor

az MTA rendes tagja

MTA-DE Sejtbiofizikai Kutatócsoport és DE OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A biológiai jelenségek sejt- és molekuláris szintű tanulmányozása a XX. század második felében korábban elképzelhetetlen gyorsasággal fejlődött, és eljutott arra a szintre, hogy lassanként a nanotechnológia fejlesztéséhez is jelentős mértékben képes hozzájárulni. Ha az ötvenes években a biológiai kutatás élvonalába tartozó kutatónak azt mondtuk volna, hogy a mikroszkóp alatt – tehát szemünk kontrollja mellett – egyetlen sejtet felemelhetünk anélkül, hogy az megsérülne, majd a sejt felszínén egyetlen molekulát megragadhatunk és mechanikailag megrághathatunk, vagy hosszú molekulákra szabályos csomót köthetünk, és a csomót jól meghúzva vizsgálhatjuk, hogy képesek vagyunk-e így eltörni a molekulát, azt mondta volna, hogy ilyen lehetetlenségeket legfeljebb a fantáziánk birodalmában lehet végrehajtani.

Más nézőpontból kiindulva azt is mondhatjuk, hogy a nano-biotechnológia az elektronmikroszkóp felfedezésével kezdődött az 1930-as évek közepén. Azonban az elektronmikroszkópos képek vákuumban készültek, így az élő sejtek működésének vizsgálatára csak korlátozottan voltak alkalma-

sak. Ennek ellenére az elektronmikroszkópia jelentős eredményeket ért el az élő sejtek fénymikroszkóppal nem látható részleteinek feltárásában. A fénymikroszkóp felbontását a diffrakciós limit az Abbe-elv alapján az 1 mikrométer kb. egyötödében szabta meg. Mivel a diffrakció hullámhosszfüggő, a Zsigmondy-féle ultraibolya mikroszkóp valamit javított a láthatóvá tételén, de az alkalmazott fényhullám hatásával maga is beleavatkozott a szerkezetbe. Az optikai forradalom akkor kezdődött, amikor megszületett az alagúteffektuson alapuló pásztázó elektronmikroszkóp (Scanning Tunneling Microscope – STM) (Binnig – Rohrer, 1982). Az STM alkalmazásával látott Gerd Binnig és Heinrich Rohrer először atomokat, majd annak segítségével raktak össze először atomokból egyszerű molekulát. Az atomi erő mikroszkópia (Atomic Force Microscopy – AFM) feltalálásával Binnig hozta létre az elektromos vezetőképességet nem igénylő nagyfeloldású mikroszkópiát is (Binnig et al., 1986). Ennek feloldóképessége folyadékközegben is messze meghaladja a fénymikroszkópét, és valóban látjuk a molekulákat, ha nem is a szemünkkel, de egy nanométer nagyságú hegygel rendelkező, piezoelekt-

¹ Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum

romosan igen pontosan letapogató szerkezet mozgásának leképezésével, amely mozgást a felület nano-domborzati viszonyai befolyásolják. A módszert immun-arany jelöléssel kombinálva sejtfelszíni receptor-min-tázatok jeleníthetők meg (Damjanovich et al., 1995; Jenei et al., 1997). Az AFM felhasználható biomolekulák között ható vonzóerők közvetlen mérésére, illetve meghatározott molekulák sejtfelszíni eloszlásának nanométer léptékű feltérképezésére is (Hinterdorfer, 2002). Ebből a célból az AFM-tűhöz kovalensen hozzákötnek egyetlen biomolekulát (például monoklonális antitestet), amely a vizsgálni kívánt sejtfelszíni molekulával specifikus kölcsönhatásban van. A tűt tartó kar meghajlása a kölcsönhatás során fellépő pN (piko=10⁻¹²) léptékű erő nagyságára enged következtetni.

A látható fénymikroszkópia forradalmát az hozta meg, hogy a mikroszkópból egyszerűen kihagyták a lencsákat, és így eltűnt a diffrakciós limit is, ami a lencse és a fény kölcsönhatásából eredve korlátozta a feloldóképességet (Betzig – Trautman, 1992; Nagy et al., 1999). Ez a feloldás 10 nm nagyságrendű is lehet. Olyan kicsiny átmérőjű optikai szondák lép ki a fény a vizsgálandó felület közvetlen közelében, hogy a fény csak fotonként tud viselkedni, mert a kilépő nyílás kisebb, mint az alkalmazott fény hullámhossza. A közletről megvilágított felületről visszaverődő fotonok információt hordoznak a felület minőségéről. Innen ered a módszer neve is: pásztázó közeli-mező optikai mikroszkópia, vagy általánosan használt angol nevén *Scanning Near-Field Optical Microscopy* (SNOM).

A lézerek fénynyomásának vizsgálatokor vette észre Art Ashkin, hogy a könnyű műanyag gömböcskék felugrának a lézer fókuszpontjába, és ott is maradnak, amíg a lézert ki nem kapcsoljuk. Ilyen módon lehet sejteket „megfogni” és odébb rakni, illetve manipulálni. Ezt a „szerkezetet” nevezzük optikai csipesznek (Ashkin, 1997).

Napjaink igen fontos, nanométerléptékű távolságmérő módszere a fluoreszcencia rezonancia energiáttranszfer (FRET) hatékonyságának meghatározása. A Theodor Förster által 1948-ban leírt sugárzásmentes energiaátadás (Förster, 1948) donor- és akceptorpárként működő fluoreszkáló molekulák között ma már mind a molekuláris, mind a sejtbiológia bevett módszere (Damjanovich et al., 1995; Damjanovich et al., 1997a; Damjanovich et al., 1997b; Nagy et al., 1998; Szőlősi et al., 1998). A Förster-típusú energiáttranszfer folyamatok alkalmasak nanométeres távolságok igen pontos megmérésére is, mert a kicsiny távolságokat akár angstrom szinten képesek meghatározni. Tehát valóban a molekulák világában végzünk finom méréseket, amelyek a molekuláris folyamatok mechanizmusának feltérképezéséhez is hozzájárulhatnak. A donor fluoreszcencia anizotropiájának mérése FRET jelenlétében lehetőséget ad a molekulák konformációs dinamikájának tanulmányozására (Bene et al., 2000). Az orvosi diagnosztikai és sejtbiológiai alkalmazásokban a nagy sebességgel áramló sejteket egyenként megvizsgálni képes sejt-analizátorok és szeparátorok (szorterek) lehetővé teszik, hogy rövid percek alatt immunológiai technikákkal kombinálva sejtek tízezreit vizsgáljuk meg, és eldöntsük, hogy van-e közöttük akárcsak néhány darab beteg sejt. Számos esetben még az egyes betegségek fajtája is meghatározható.

A módszertani felsorolások közül nem hagyhatjuk ki a felszíni plazmon rezonancia jelenségét sem (Tews et al., 1970), amelynek kiváló úttörője Kroó Norbert fizikus-akadémikus. A jelenség alapja – hogy biológiai példánál maradjunk – a következő: a sejtek felszínének immunológiai reakciók segítségével meghatározott molekuláihoz kolloidális arany- vagy ezüstgömböket kötünk, amelyek átmérője 1-50 nm között változhat. Ha a gömböcskék fluoreszkáló molekulák közelében helyezkednek el, azok fluoresz-

cenciáját igen jelentős mértékben felerősíthetik. A rómaiak és a katedrálisépítők aranyport kevertek a festett üveglakokba, hogy azok jobban csillogjanak. A fluoreszkáló molekulák fényintenzitása ezüstfelület mellett akár kétszázszorosára is fokozódhat. Az aranykolloid sokkal gyengébben erősít, de nincs kitéve korróziónak a sókat tartalmazó nedves biológiai környezetben.

Viszonylag újkeletű, és napjainkban kezdik alkalmazni a nanométer átmérőjű felvezető nano-kristályokat (kvantum-pont), amelyek néhány nanométer átmérőjű CdSe, vagy ZnS pontocskák (Lacoste et al., 2000). Ezeket is hozzá lehet rögzíteni meghatározott biológiai felületekhez (pl. avidin-biotin reakció segítségével). Nagy előnyük abból fakad, hogy a kibocsátott fluoreszcencia színét a nano-kristály átmérője szabja meg, így egyetlen gerjesztő fénysugár hatására a különböző átmérőjű kvantum-pontok más-más színnel jelzik a különböző molekulák lokalizációját, illetve annak változását. A jelenség a dobozba zárt elektron modelljével írható le. Ugyancsak gyorsan kezd terjedni a kvantum-pontok alkalmazása az áramlási citometria világában is. A kvantum-pontok nagy gyakorlati előnye végtelen fotostabilitásuk, ezek a részecskék ugyanis nem égethetők ki, „örök életűek”.

A biológia napjainkban kezdi felhasználni a fizikai kémiában már régebben ismert és alkalmazott egyéb nanotechnológiai módszereket is. Az 1970-es évek elején dolgozták ki a koncentráció-korrelációs analízis vagy fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia (FCS) módszerét (Ehrenberg – Rigler, 1974; Magde et al., 1974) a kis térfogatban lejátszódó reakciók egyensúlyának és kinetikájának, molekulák diffúziójának, fotofizikai folyamatoknak, illetve több molekula együttes mozgásának vizsgálatára. A módszernek a konfokális mikroszkópiával való párosítása – ezáltal a detektálási térfogat drasztikus csökkentése – tette alkalmassá az FCS-t biológiai rendsze-

rek tanulmányozására (Eigen – Rigler, 1994; Brock et al., 1999). Ma már kereskedelmi forgalomban is kaphatók konfokális mikroszkóppal kombinált FCS készülékek. Ezek segítségével a sejtek belsejében vagy felszínén kiválasztott, fókuszált lézernyalábbal megvilágított nagyon kicsiny térfogatban – rendszerint fluoreszcenciával láthatóvá tett – molekulák számának a diffúziós mozgás révén bekövetkező ingadozása detektálható. A módszer alapvetően egyszerű. A térfogat, amely akár 10^{-16} liternél ($0,1 \mu\text{m}^3$ -nél) is kisebb lehet – ez egy limfocita térfogatának néhány tizedre része –, elég kicsiny ahhoz, hogy benne a jelzett molekulák száma észrevehető mértékben fluktuáljon. A molekulaszám, és így a detektált jel relatív ingadozása fordítottan arányos a detektálási térfogatban tartózkodó molekulák *N* átlagos számával (koncentrációjával): $\Delta N/N \propto 1/\sqrt{N}$, aminek következtében a módszer érzékenysége a koncentráció csökkenésével eleinte nem csökken, hanem növekszik. FCS segítségével olyan alacsony koncentrációtartomány válik elérhetővé (a detektálási küszöb kb. 10^{-15} M), amely messze a hagyományos spektroszkópiai eljárások zajsztintje alatt található. A fluktuáció kinetikájának analízise – lényegében minden adatot az azt megelőzőkhöz hasonlítunk, ezért is nevezzük korrelációs analízisnek – olyan görbét, ún. autokorrelációs függvényt eredményez, amelyből a megfigyelt molekulafajta diffúziós állandója és lokális koncentrációja a térfogat ismeretében meghatározható (1. ábra). Így például kimutatható egy festékkel megjelölt molekula (gyógyszer hatóanyag, enzim szubsztrátum, oligonukleotid, antitest, stb.) kötődése kölcsönható partneréhez, ami által a molekula diffúziója lelassul. Ha két molekulát vizsgálunk egyidejűleg (kétszín analízissel), akkor a köztük esetleg fennálló keresztkorreláció (együtt-mozgás) is kiszámítható, és a kölcsönhatás még nagyobb érzékenységgel mutatható ki (Schwille et al.,

1997). Ez a módszer a sejtek molekuláris szintű kölcsönhatásainak a szinte egyetlen vagy legalábbis néhány molekulára leszűkíthető vizsgálatát teszi lehetővé. Ilyen feloldású vizsgálatok *in vivo* rendszerekben eddig nem léteztek. A módszert már ma is széleskörűen alkalmazzák a gyógyszeriparban. Tervezik felhasználását betegségek, fertőzések (például: HIV, prionok, Alzheimer-kór) korai felismerésére a néhány sejten/sejtben megjelenő vírusantigének, fehérje-aggregátumok fluoreszkáló antitestekkel való megjelölése és kis koncentrációban történő kimutatása segítségével.

Természetesen a molekuláris biológia sem marad le a nanotechnológiai módszerek alkalmazásában. A felsorolt módszerek csak illusztrálják a nanotechnológia orvosi-biológiai alkalmazásainak lehetőségeit. Valamivel átfogóbb képet kaphatunk az általános tendenciákról, ha szerzőtársunk segítségével az alábbiakban megvizsgáljuk, hogy az Európai Unió központi szervei milyen irányokat támogatnak az EU keretprogramjain belül.

FÜGGELÉK

Nano-biotechnológia az EU kutatási keretprogramjaiban

A nanotechnológia multidiszciplináris tudományterület. Művelésében anyagtudósok, gépész- és villamosmérnökök, orvoskutatók szövetkeznek biológusokkal, fizikusokkal és vegyészekkel. A tudás, az eszközök és eljárások, valamint az atomi és molekuláris szintű kölcsönhatások ismeretének megosztására, átadására felmerülő igény egyesíti a nanoméretekben folytatott kutatás különböző területeit. Az új fogalmaknak és eljárásoknak (például az atomi léptékű képzés és mozgatás, az ön-összeszerelődés, a biológiai struktúra-funkció kapcsolat ismerete) az egyre hatékonyabb számítástechnikai háttér segítségével való összehangolása serkenti a nanotechnológia gyors fejlődését, a kutatók

pedig szakértelmüket új alkalmazási területekre terjeszthetik ki.

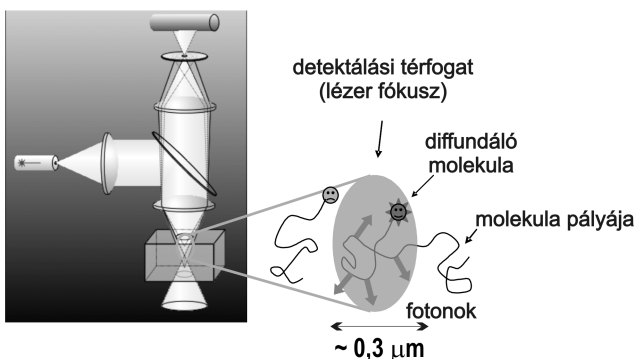
A nano-biotechnológia (a „posztgenomikus” biotechnológia) lehetővé teszi a kutatást az egyedi molekulák és atomok szintjén. Az egyik legjellegzetesebb, már rendelkezésre álló kereskedelmi termék a biochip, amely forradalmasítja a gének és termékeik kvantitatív analízisét a biotechnológia és biomedicina területén.

A korábbi keretprogramokban (KP) az Európai Bizottság megalkotott egy, a nanotechnológiával foglalkozó kutatási portfóliót. Az 1994-1998 közötti 4. KP mintegy hetven projektet támogatott ezen a területen. A nano-biotechnológiai kutatások a BioTech és a BioMed programokat támogatják (gyógyszerfelfedezés – inkapszuláció, bio-esszék, stb.)

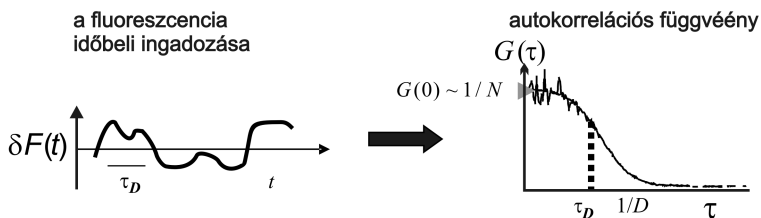
Az 5. KP-ban a nano-biotechnológiai kutatásokat az *Életminőség tematikus program* „Cell Factory” kulcsakciója, ezen belül is *Az élő szervezetek sejt- és molekula-szintű jellemzőinek felhasználása új nano- és mikrotechnológiák kifejlesztéséhez* című 3.3.1 alprogram támogatta (EC1). A program célja a sejtek működésén (mint „biológiai gyáron”) alapuló innovatív kutatások és technológiák, valamint ezeknek az egészségügy, a környezetvédelem, a mezőgazdasági ipar, stb. területén való alkalmazásának támogatása. Ez magában foglalja az új nanotechnológiai eszközök biológiai rendszerekben való alkalmazását, valamint a biológiai rendszerek eszközként való felhasználását új termékek és technológiák kifejlesztésében. A *Cell Factory* program nyolc nano-biotechnológiai projektet támogatott (*1. táblázat*) (Benediktsson, 2002).

Az Európai Bizottság új, 6. keretprogramjának kialakítása során az addig szétszórtan jelentkező, nanotechnológiákkal foglalkozó programok új arculatának kialakításához több előkészítő dokumentum született (lásd irodalomjegyzék). Ezek átfogó módon kezelték

FLUORESCENCIA-KORRELÁCIÓS SPEKTROSKÓPIA (FCS)



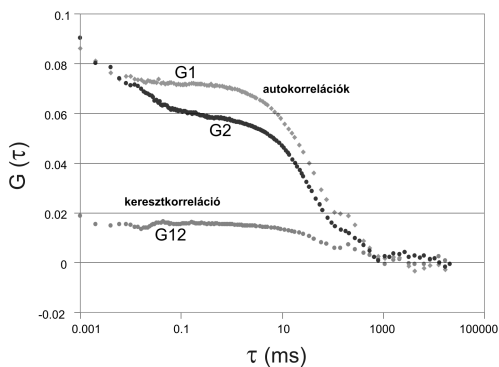
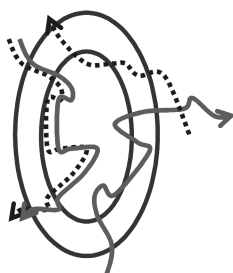
I. Autokorreláció



τ_0 : diffúziós idő (a részecske által átlagosan az érzékeny térfogatban eltöltött idő);
 D : diffúziós állandó; $G(0)$: amplitúdó; N : átlagos molekulaszám a detektálási térfogatban

II. Keresztkorreláció

Két, spektrálisan különböző festékkel megjelölt molekula fluoreszcencia-ingadozása közötti keresztkorreláció a molekulák stabil asszociációját biztosítja.



1. ábra

Cím	Tartalom, célkitűzés
A membránfehérjék és szekretált fehérjék bioszintézisének és célba jutásának vizsgálata	A szekretált és membránfehérjék bioszintézisének és célba jutásának részletes megismerése (komponensek, molekuláris mechanizmusok, szabályozás).
Nano-biotechnológia alkalmazása élesztő rendszerben: biotechnológiai folyamatok optimalizálása ipari, orvosi és mezőgazdasági jelentőségű termékek gyártásában	Nano-biotechnológiai eljárások kifejlesztése a globális gén-expressziós tanulmányokból kapott információk felhasználására. Az élesztő „transzkriptomjának” (és következőképpen „metabolomjának”) ellenőrzését végző fehérjék karakterizálása, ami lehetővé teszi az egész genomra kiterjedő szabályozó hálózatok részletes jellemzését, így hatékony, alacsony költségű módszerek alkalmazását orvosi, állatorvosi gyógyszeres tesztelésében, valamint új gombairtók kifejlesztését a növényvédelemben.
Cellulóz kötő-doménnel rendelkező hibrid fehérjék előállítása: új biotechnológiai eszköztár kifejlesztése cellulóz-, a papír- és a textilipar számára	Biotechnológiai eszközök kifejlesztése a cellulóz rostok módosítására: cellulóz kötő domént és katalitikus vagy egyéb specifikus funkcióval rendelkező domént/alegység-eket tartalmazó hibrid fehérjék előállítása; ezek alkalmazási lehetőségeinek vizsgálata a cellulóz-, a papír- és a textiliparban.
A Hsp70 chaperon rendszer alkalmazása új terápiás eljárások kifejlesztésében és nagy hatékonyságú sejt-biomolekuláris gyárak előállításában	A Hsp70 chaperon rendszer biokémiai és funkcionális jellemzése; a ko-chaperonok szerepének felderítése; a Hsp70 chaperon komplex hatásmechanizmusának tanulmányozása az apoptózis és a sejt-transzformáció szabályozása során; a Hsp70 amyloidosisban és neurodegeneratív betegségekben játszott szerepének vizsgálata.
Szintetikus SH2-domén tartalmú fehérjemodulok alkalmazása rákos sejtek jellemzésére és a rákkal kapcsolatos fenotípusok azonosítására	Új biotechnológiai eljárások kifejlesztése, amelyek a természetben előforduló fehérjéket ill. fehérje-modulokat (például SH2-domén) alkalmaznak a rákos sejtek proteomikai jellemzéséhez, a rákos fenotípusok azonosításához és a racionális gyógyszertervezéshez. Az SH2-domén kritikus aminosavainak véletlenszerű mutagenézisével előállítható modulok alkalmazásával elméletileg bármely foszforozin tartalmú fehérje megköthető és tovább tanulmányozható.
Betegségek jellemzése egyedi sejtek szintjén vizsgált jelátviteli folyamatok alapján	Nanotechnológiai eljárások kifejlesztése és alkalmazása az intracelluláris jelátviteli folyamatok valós idejű megfigyelésére és vizsgálatára egyedi sejtek szintjén. Új nanotechnológiai stratégiák kifejlesztése a jelátviteli útvonalak részletes molekuláris feltérképezésére egészséges és beteg sejteken.
Nano-biotechnológia és orvostudomány	A nano-gyártási eljárások, valamint a sejtek és szövetek nanorészecskék által kiváltott biológiai reakcióinak vizsgálata. Orvosi eszközök prototípusának tervezése, építése és tesztelése nanorészecskék felhasználásával.
Az élesztő sejt falának alkalmazása antimikrobiális ágensek hatékony teszteléséhez	Az élesztő modellszervezetként való használata patogén és nem patogén gombák sejt falának moduláris szerkezetét meghatározó kereszt-csatolásos és újramodellezési útvonalak jellemzésében; a sejt falat gyengítő kezelések hatását kompenzáló mechanizmus meghatározó tényezőinek feltárása, hatékony szűrőeszköz előállítása, új hatásos gombaellenes szerek keresése.

1. táblázat

a különböző tudományterületeket (EC2), de kiemelték azokat, amelyeken a közeljövőben jelentős fejlődés várható. Így a természet- és fizikai tudományok területén a biotechnológiát, ezen belül is a nano-biotechnológiát említették (EC3).

A korábban már említett biochipek mellett a jövőben a nano-biotechnológia további érdekes újításokkal szolgálhat, a gyógyszerek pontos célba juttatását lehetővé tevő rendszerektől kezdve a jelentősen megnövekedett biokompatibilitású beültetett eszközöket, amelyek rendkívüli hatással lehetnek az orvostudományra. A gyógyszerek pontos célba juttatásának elérése a nanotechnológia egyik fontos területe. A gyógyszerek szükségtelenül nagy mennyiségű adagolásának elkerülésére olyan, csak a beteg sejteket vagy szöveteket elérő, az immunrendszer által nem érzékelt készítményekre lenne szükség, amelyek akkor és csak ott hatnak, ahol erre szükség van. Ez újabb lényeges, ugyanakkor nem egyszerűen megoldható kihívást jelent a nanotechnológia területén.

Az új eszközök méreteinek csökkentésével a mai termelési technológiákat új, nanoszintű termelési technológiák váltják fel. Az egyik leglényegesebb feladatot a molekulák

kívánt funkcióval rendelkező, megszabott konfigurációkba való önszerveződésének elérése. Az önszerveződés számos fogalmat és strukturális komplexitást foglal magába a kristályok növekedésétől a teljes biológiai egységek reprodukációjáig. Bár ezen a területen már jelentős előrehaladást értek el, eddig csak viszonylag egyszerű struktúrákat sikerült előállítani. Az önszerveződés tehát kulcsfontosságú tudományos kihívás az ellenőrzött nanotechnológia kialakításában.

A nano-biotechnológiában a természettől kiváltképp sokat lehet tanulni. A fehérjék, nukleinsavak, szénhidrátok és zsírok felhasználásával a természet több millió éven keresztül fejlesztette ki a nanoléptékű élet eszközeit. Az evolúció termékeinek lemásolása és az ember által alkotott eszközökbe (például molekuláris motorokba és nanogépekbe, fotonikus eszközökbe, vegyi reaktorokba, szivattyúkba és szűrőkbe, stb.) történő beépítése, az egyik legnagyobb interdiszciplináris kihívás napjainkban.

Kulcsszavak: *nanotechnológia, nano-biotechnológia, optikai és pásztázó szondás mikroszkópia, fluoreszcencia spektroszkópia, EU kutatási keretprogramok*

IRODALOM

- Ashkin, Art (1997): Optical Trapping and Manipulation of Neutral Particles Using Lasers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. **94**, 4853-4860.
- Bene László – Fulwyler, Mack J. – Damjanovich Sándor (2000): Detection of Receptor Clustering by Flow Cytometric Fluorescence Anisotropy Measurements. *Cytometry*. **40**, 292-306.
- Betzig, Eric – Trautman, Jay K. (1992): Near-Field Optics: Microscopy, Spectroscopy, and Surface Modification beyond the Diffraction Limit. *Science*. **257**, 189-195.
- Binnig, Gerd – Quate, Calvin F. – Gerber, Christoph (1986): Atomic Force Microscope. *Physical Review Letters*. **56**, 930-933.
- Binnig, Gerd – Rohrer, Heinrich (1982): Scanning Tunneling Microscopy. *Helvetica Physica Acta*. **55**, 726-735.
- Brock, Roland – Vámosi G. – Vereb G. – Jovin, T. M. (1999): Rapid Characterization of Green Fluorescent Protein Fusion Proteins on the Molecular and Cellular Level by Fluorescence Correlation Microscopy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. **96**, 10123-10128.
- Damjanovich Sándor – Bene L. – Matkó J. – Alileche A. – Goldman, C. K. – Sharrow S. – Waldmann, T. A. (1997a): Preassembly of Interleukin 2 (IL-2) Receptor Subunits on Resting Kit 225 K6 T Cells and Their Modulation by IL-2, IL-7, and IL-15: A Fluorescence Resonance Energy Transfer Study. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. **94**, 13134-13139.
- Damjanovich Sándor – Gáspár R. Jr. – Pieri C. (1997b): Dynamic Receptor Superstructures at the Plasma Membrane. *Quarterly Review of Biophysics*. **30**, 67-106.

- Damjanovich Sándor – Vereb G. – Schaper, A. – Jenei A. – Matkó J. – Starink, J. P. – Fox, G. Q – Arndt-Jovin, D. J. – Jovin, T. M. (1995): Structural Hierarchy in the Clustering of Hla Class I Molecules in the Plasma Membrane of Human Lymphoblastoid Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* **92**, 1122-1126.
- Ehrenberg, Måns – Rigler, Rudolph (1974): Rotational Brownian Motion and Fluorescence Intensity Fluctuations. *Chemical Physics.* **4**, **3**, 390-401.
- Eigen, Manfred – Rigler, Rudolph (1994): Sorting Single Molecules: Application to Diagnostics and Evolutionary Biotechnology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* **91**, 5740-5747.
- Förster, Theodor (1948): Zwischenmolekulare Energiewanderung Und Fluoreszenz. *Annalen der Physik.* **2**, 55-75.
- Hinterdorfer, Peter (2002): Molecular Recognition Studies Using the Atomic Force Microscope. *Methods in Cell Biology.* **68**, 115-139.
- Jenei Attila – Varga S. – Bene L. – Mátyus L. – Bodnár A. – Bacsó Z. – Pieri, C. – Gáspár R. Jr. – Farkas T. – Damjanovich S. (1997): HLA Class I and II Antigens Are Partially Co-Clustered in the Plasma Membrane of Human Lymphoblastoid Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* **94**, 7269-7274.
- Lacoste, Thilo D. – Michalet, X. – Pinaud, F. – Chemla, D. S. – Alivisatos, A. P. – Weiss, S. (2000): Ultra-high-Resolution Multicolor Colocalization of Single Fluorescent Probes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* **97**, 9461-9466.
- Magde, Douglas – Elson, Elliot L. – Webb, Watt W. (1974): Fluorescence Correlation Spectroscopy. II. An Experimental Realization. *Biopolymers.* **13**, 29-61.
- Nagy Péter – Jenei A. – Kirsch, A. K. – Szöllösi J. – Damjanovich S. – Jovin, T. M. (1999): Activation-Dependent Clustering of the ErbB2 Receptor Tyrosine Kinase Detected by Scanning Near-Field Optical Microscopy. *Journal of Cell Science.* **112** (Pt 11), 1733-1741.
- Nagy Péter – Vámosi G. – Bodnár A. Lockett, S. J. – Szöllösi J. (1998): Intensity-Based Energy Transfer Measurements in Digital Imaging Microscopy. *European Biophysics Journal.* **27**, 377-389.
- Schwille, Petra – Meyer-Almes, Franz-Josef – Rigler, Rudolph (1997): Dual-Color Fluorescence Cross-Correlation Spectroscopy For Multicomponent Diffusional Analysis in Solution. *Biophysical Journal.* **72**, 1878-1886.
- Szöllösi János – Damjanovich Sándor – Mátyus László (1998): Application of Fluorescence Resonance Energy Transfer in the Clinical Laboratory: Routine and Research. *Cytometry.* **34**, 159-179.
- Tews, K-H. – Inacker, O. – Kuhn H. (1970): Variation of the Luminescence Lifetime of a Molecule Near an Interface Between Differently Polarizable Dielectrics. *Nature.* **228**, 276-278.

IRODALOM A FÜGGELÉKHEZ

- EC 1 (2001) Nanotechnology in the European Research Area, European Commission, Brussels
- Benediktsson, Indridi (2002) Cell Factory, Community Funded Projects, European Commission, Brussels
- EC 2 (2001) Sustainable Production, Challenges & Objectives for EU Research Policy, Report of the Expert Group on Competitive & Sustainable Production and Related Service Industries in Europe in the Period to 2020, European Commission, Brussels
- EC 3 (2002) Workprogramme for Thematic Priority No3 Nanotechnologies, European Commission, Brussels

