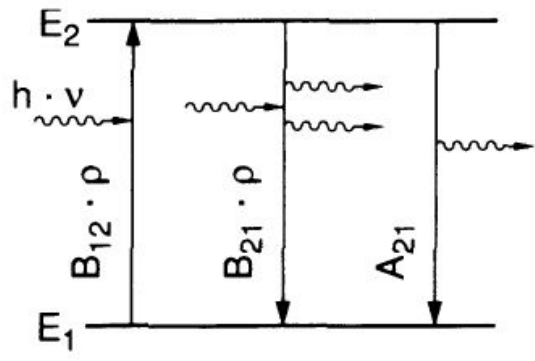


**Характеристики
спектров кристаллов**

Поглощение и излучение



$$\nu_0 = (E_2 - E_1)/h$$

$$\frac{d}{dt} \mathcal{P}_{12} = B_{12} \rho(\nu)$$

$$\frac{d}{dt} \mathcal{P}_{21} = B_{21} \rho(\nu)$$

$$\frac{d}{dt} \mathcal{P}_{21}^{\text{spont}} = A_{21}$$

$$B_{12} = \frac{g_2}{g_1} B_{21} ,$$

$$A_{21} = \frac{8\pi h^3}{c^3} B_{21} .$$

$$\left(\frac{dN_2}{dt} \right)_{sp} = -AN_2$$

$$\left(\frac{dN_2}{dt} \right)_{nr} = -\frac{N_2}{\tau_{nr}}$$

$$\left(\frac{dN_2}{dt} \right)_{st} = -W_{21}N_2$$

$$\left(\frac{dN_1}{dt} \right)_a = -W_{12}N_1$$

$$W_{21} = \sigma_{21}F$$

$$W_{12} = \sigma_{12}F$$

$$g_2\sigma_{21} = g_1\sigma_{12}$$

$$J = J_0 \exp(-k_\nu l)$$

$$k_\nu = \sigma_e N_1 - \sigma_e N_2 = \sigma_e (N_1 - N_2) = -\sigma_e (N_2 - N_1) = -\sigma_e \Delta N$$

$$J/J_0 = \exp[(\alpha - \rho) l]_\nu = \exp[(\Delta N \sigma_e - \rho) l]_\nu .$$

Поглощение и излучение

Условие равновесия двухуровневой системы:

$$-A_{21}N_2g(\nu) = J_0 \frac{h\nu_{21}n}{c} (B_{12}N_1 - B_{21}N_2)g(\nu).$$

Ослабление светового потока в двухуровневой среде:

$$-\frac{1}{J_0} \frac{dJ}{dl} = \frac{h\nu_{21}n}{c} B_{12}N_1 \left(1 - \frac{N_2}{N_1}\right) g(\nu), \quad \text{где } dJ/dl = -A_{21}N_2g(\nu).$$

$$J = J_0 e^{-k_\nu l} = J_0 e^{-D},$$

$$k_\nu = \frac{D}{l} = \frac{h\nu_{21}n}{c} B_{12}N_1 \left(1 - \frac{N_2}{N_1}\right) g(\nu),$$

$$k_\nu = \frac{\lambda_{21}^2 A_{21} N_1}{8\pi} \left(1 - \frac{N_2}{N_1}\right) g(\nu).$$

Если $N_1 \gg N_2$

$$\int k_\nu d\nu = \frac{\lambda_{21}^2}{8\pi} A_{21} N_1.$$

$$k_\nu = \sigma_a(\nu) N_1$$

$$\sigma_e(\nu_{21}) = \frac{\lambda_{21}^2 A_{21}}{4\pi^2 n^2 \Delta\nu_{\text{лиом}}} = \frac{k_\nu}{N_1} = \sigma_a(\nu_{12}).$$

Table 2.2. Relations between the transition matrix element D_{ik} and the Einstein coefficients A_{ik} , B_{ik} , the oscillator strength f_{ik} , the absorption cross section σ_{ik} , and the line strength S_{ik} . The numerical values are obtained, when λ is given in nm

$$\begin{array}{lll}
 A_{ki} = \frac{1}{g_k} \frac{16\pi^2 \nu^3}{3\varepsilon_0 h c^3} |D_{ik}|^2 & B_{ik}^{(\nu)} = \frac{1}{g_i} \frac{2\pi^2}{3\varepsilon_0 h^2} |D_{ik}|^2 & B_{ik}^{(\omega)} = \frac{1}{g_i} \frac{\pi}{3\varepsilon_0 \hbar^2} |D_{ik}|^2 \\
 = \frac{2.82 \times 10^{73}}{g_k \cdot \lambda^3} |D_{ik}|^2 \text{ s}^{-1} & = 6 \times 10^4 \lambda^3 \frac{g_i}{g_k} A_{ki} & = \frac{g_k}{g_i} B_{ki} \\
 \\
 f_{ik} = \frac{1}{g_i} \frac{8\pi^2 m_e \nu}{e^2 h} |D_{ik}|^2 & S_{ik} = |D_{ik}|^2 & \sigma_{ik} = \frac{1}{\Delta\nu} \frac{2\pi^2 \nu}{3\varepsilon_0 c h g_i} \cdot S_{ik} \\
 = \frac{g_k}{g_i} \cdot 1.5 \times 10^{-14} \lambda^2 A_{ki} & = (2.37 \times 10^{-60} g_i \lambda) f & B_{ik} = \frac{c}{h\nu} \int_0^\infty \sigma_{ik}(\nu) d\nu
 \end{array}$$

Дипольный матричный элемент:

$$D = -e \int \psi^* \mathbf{r} \psi d\tau.$$

Спектры поглощения и излучения

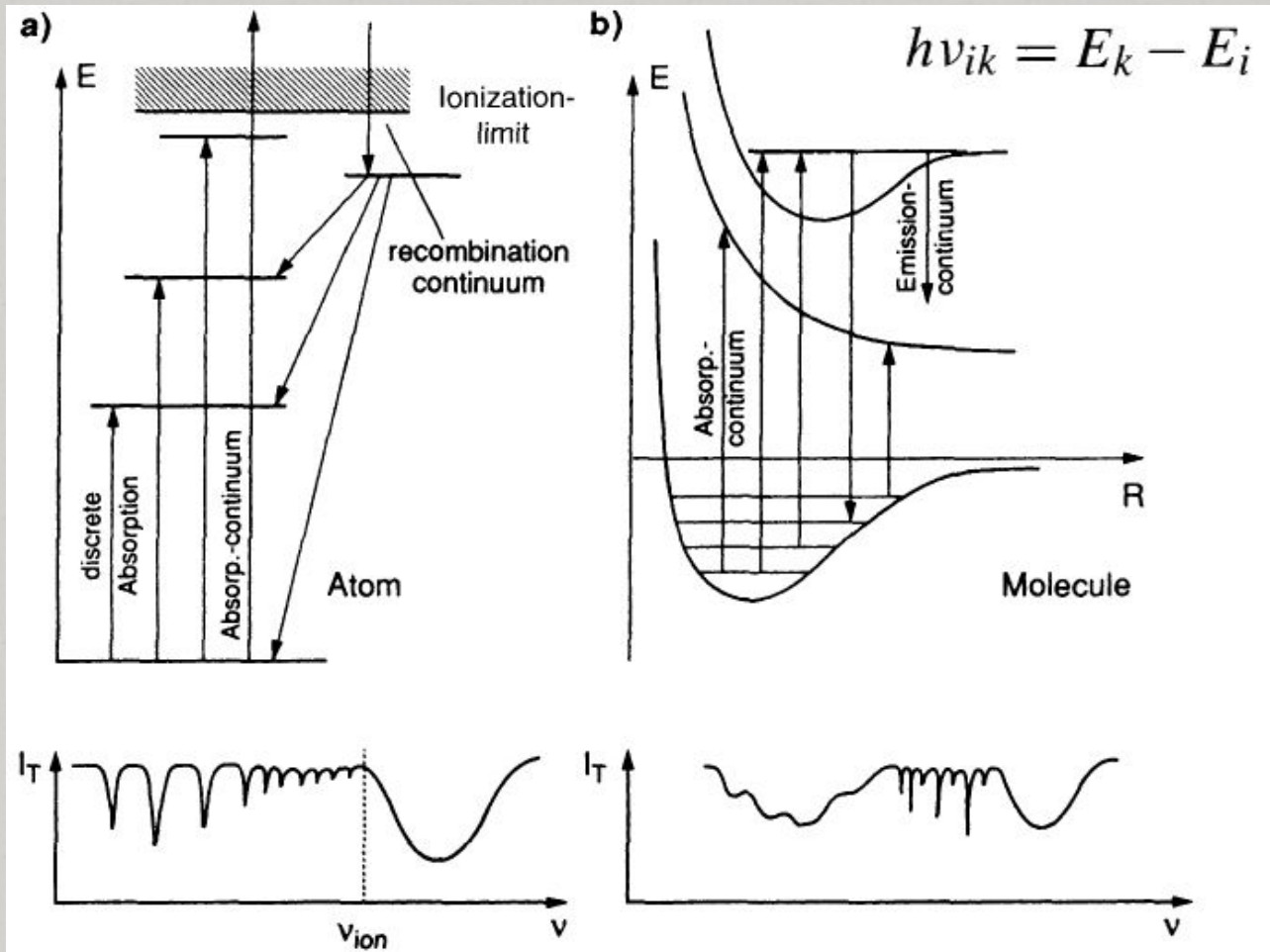


Fig. 2.11a,b. Schematic diagram to illustrate the origin of discrete and continuous absorption and emission spectra for atoms (a) and molecules (b)

Спектры поглощения и излучения

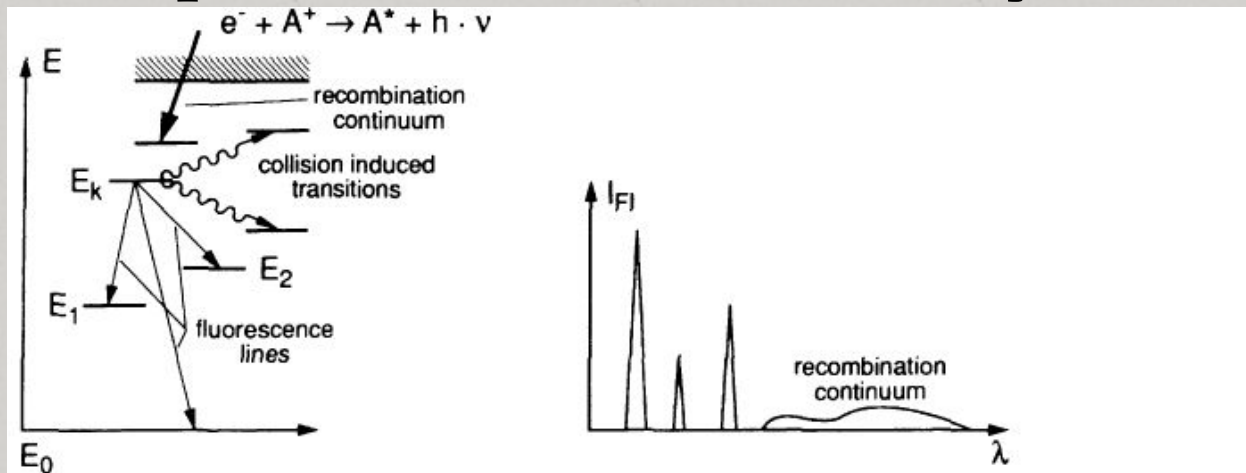


Fig. 2.13. Discrete and continuous emission spectrum and the corresponding level diagram, which also shows radiationless transitions induced by inelastic collisions (wavy lines)

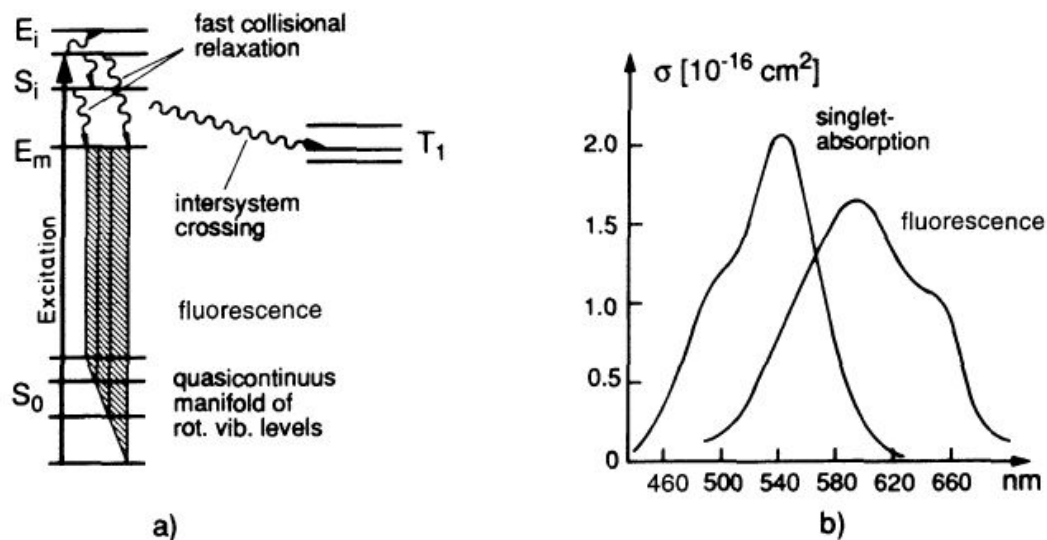
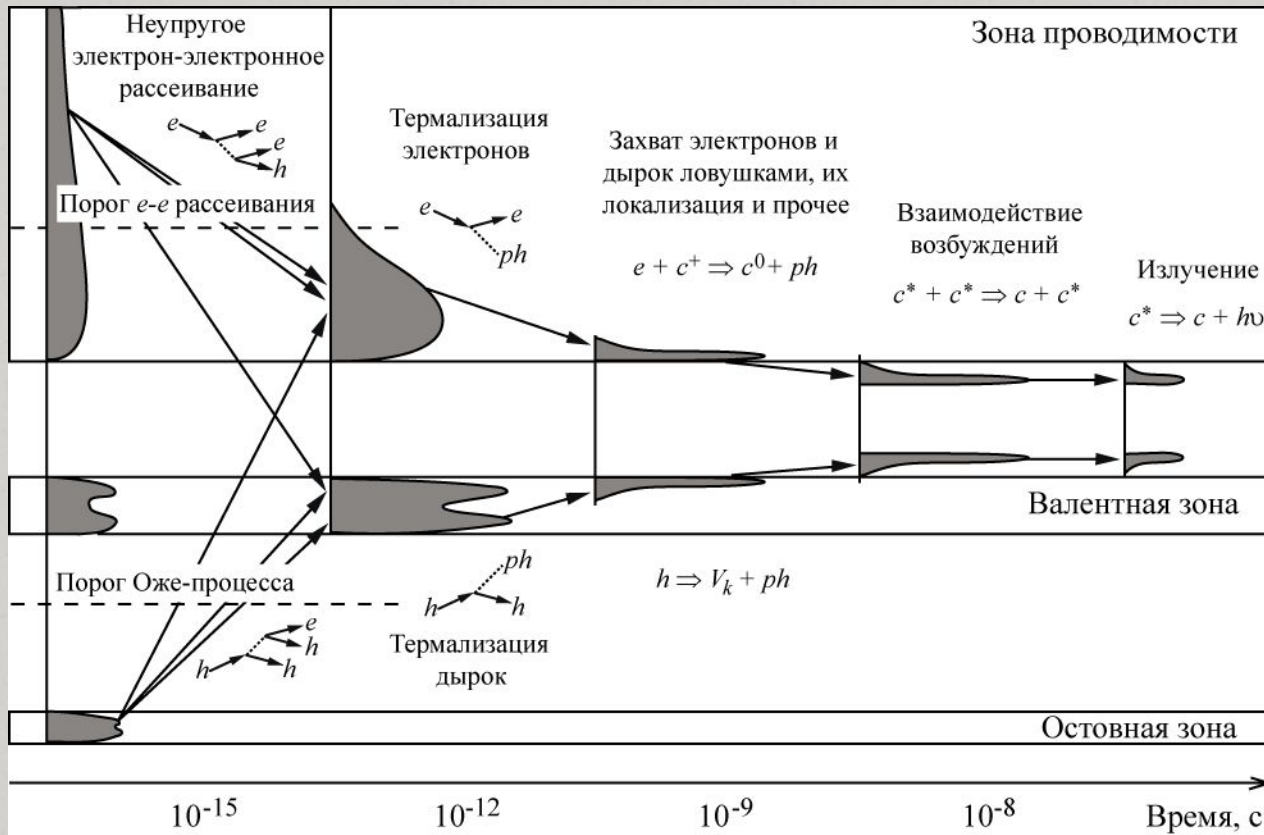


Fig. 3.26. (a) Schematic level diagram illustrating radiative and radiationless transitions. (b) Absorption and emission cross section of rhodamine 6G dissolved in ethanol

Электронные переходы



Где располагаются уровни примесного иона?

Активированный кристалл

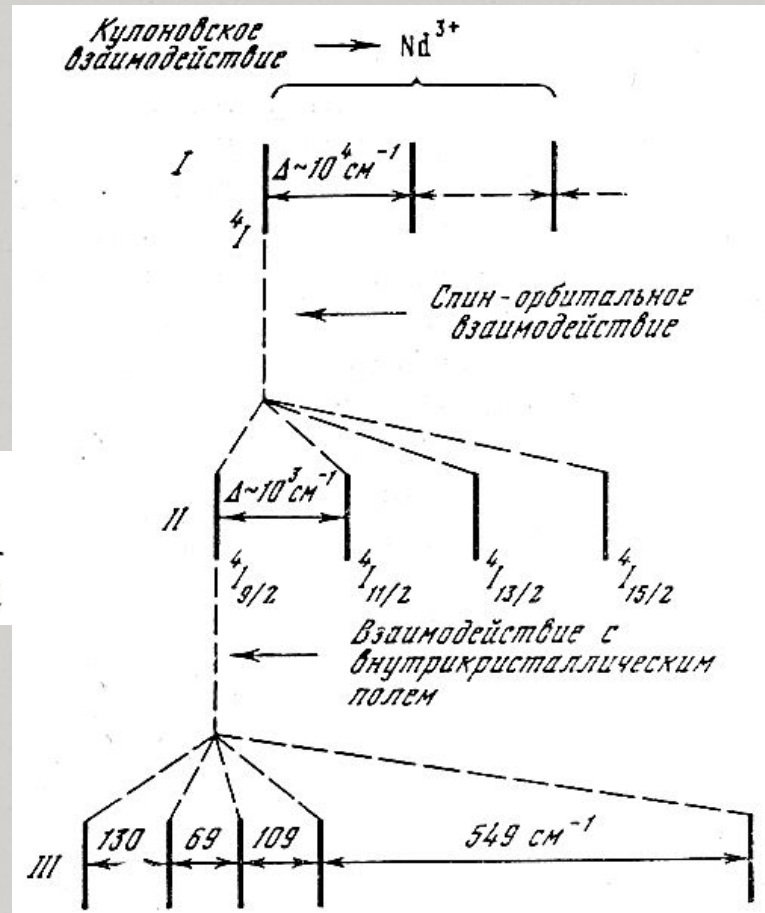
$$H\Psi = E\Psi$$

$$H = H_0 + V_{кр}$$

$$H = V_{ee} + V_{so} + V_{кр}$$

$$V_{ee} = \sum_{i=1}^N \left(\frac{p_i^2}{2m} - \frac{Ze^2}{r_i} \right) + e^2 \sum_{j>i=1}^N \frac{1}{r_{ji}}$$

$$V_{so} = \lambda LS$$



Редкоземельные примесные ионы

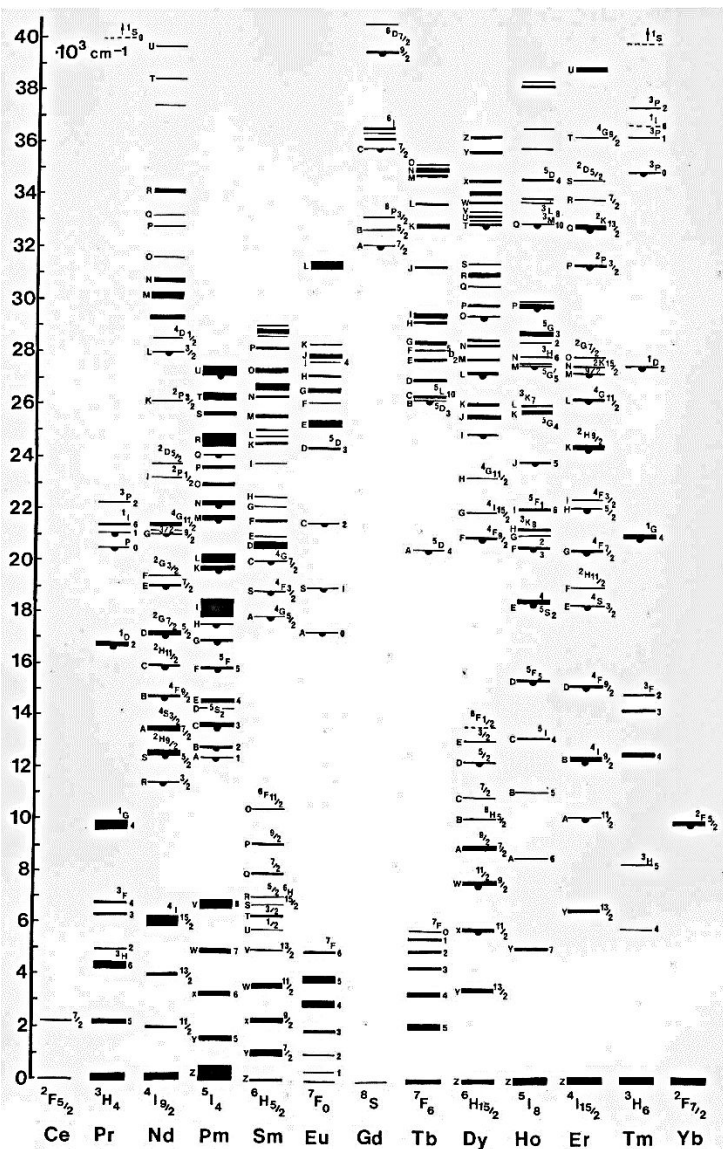
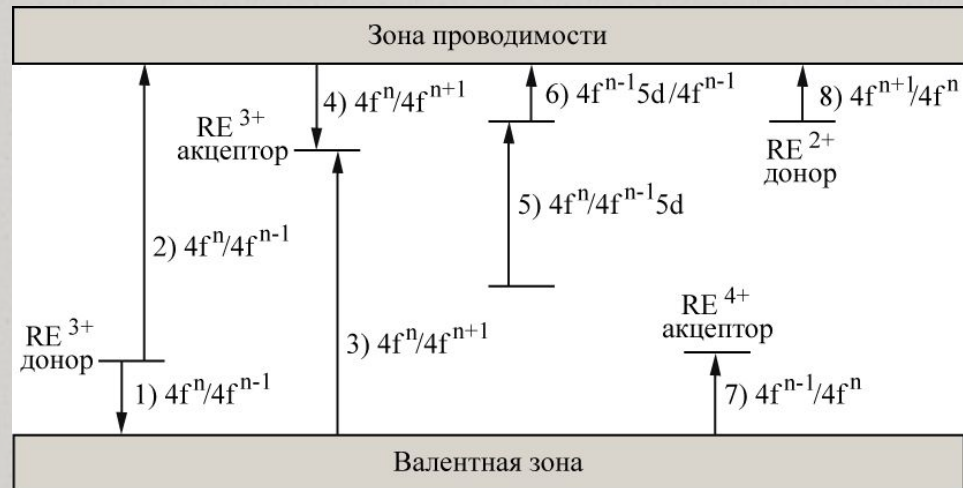
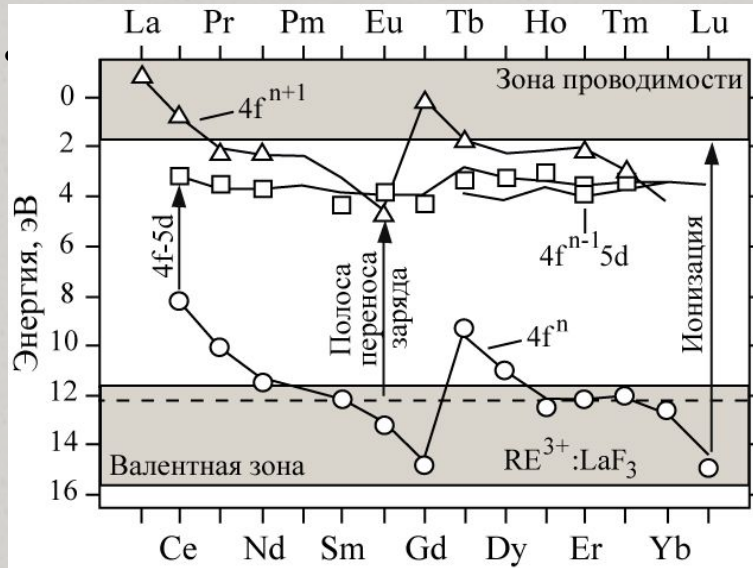


Таблица 4.1. Расщепление мультиплетов ионов TR^{3+} в поле кристалла заданной симметрии

Локальная симметрия	Обозначение по Шенфлису *	$J=0$	1	2	3	4	5	6	7	8
		$2J+1=$ $=1$	3	5	7	9	11	13	15	17
Кубическая	O_h, T_d, O, T_h, T	1	1	2	3	4	4	6	6	7
		1	2	3	5	6	7	9	10	11
Гексагональная	$D_{6h}, D_{3h}, C_{6v}, D_6, C_{6h}, C_{3h}, C_6$	1	2	3	5	6	7	9	10	11
		1	2	4	5	7	8	10	11	13
Тригональная	$D_{3d}, C_{3v}, D_3, C_{3i}, C_3$	1	2	3	5	6	7	9	10	11
		1	2	4	5	7	8	10	11	13
Тетрагональная	$D_{4h}, D_{2d}, C_{4v}, D_4, C_{4h}, S_4, C_4$	1	3	5	7	9	11	13	15	17
		1	3	5	7	9	11	13	15	17
Ромбическая	D_{2h}, C_{2v}, D_2	1	3	5	7	9	11	13	15	17
Моноклиная	C_{2h}, C_s, C_2	1	3	5	7	9	11	13	15	17
Триклинная	C_i, C_1	1	3	5	7	9	11	13	15	17
		$J=1/2$	$3/2$	$5/2$	$7/2$	$9/2$	$11/2$	$13/2$	$15/2$	$17/2$
		$2J+1=$ $=2$	4	6	8	10	12	14	16	18
Кубическая	O_h, T_d, O, T_h, T	1	1	2	3	3	4	5	5	6
		1	2	3	4	5	6	7	8	9

Остальные более низкие типы

Примесные ионы в кристалле



Правила отбора

Состояния квантовых систем (атома и ядра) характеризуются определенными значениями момента количества движения J и четности P .

Если атом или ядро переходят из одного состояния в другое в результате поглощения электромагнитного излучения, то законы сохранения момента количества движения и четности требуют, чтобы поглощенное излучение также имело определенные значения J и P .

Четность терма (состояний)

Понятие четности возникает в связи с операцией инверсии.

$$\hat{P}\psi(\mathbf{r}) = \psi(-\mathbf{r}).$$

Четная волновая функция

$$\psi(\mathbf{r}) = \psi(-\mathbf{r})$$

Нечетная волновая функция

$$\psi(\mathbf{r}) = -\psi(-\mathbf{r}).$$

Для четных термов $\sum_i l_i$ для всех электронов является четной

Для нечетных термов $\sum_i l_i$ - нечетной



Все термы, возникающие из заданной конфигурации, имеют одинаковую четность.

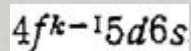
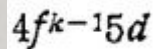
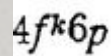
Правила отбора

Рассмотрим конфигурацию f^k , состоящей из эквивалентных f -электронов.

$$\sum_{i=1}^k l_i = 3k \begin{cases} \text{четная при четном } k, \\ \text{нечетная при нечетном } k. \end{cases}$$

Все термы конфигураций f^2, f^4, \dots - четные, а конфигураций f, f^3, \dots - нечетные.

Также возможны смешанные конфигурации, состоящие из неэквивалентных электронов, когда все пары квантовых чисел n, l различны



Правила отбора

Полный момент количества движения и четность фотона

Плоская волна не имеет определенного момента и четности. Однако векторный потенциал такой волны можно разложить в ряд по состояниям с определенными значениями J и P .

Полный момент количества движения фотона: $J = 1, 2, 3, \dots$

Невозможность для фотона $J = 0$ следует из того, что электромагнитная волна поперечна и поэтому не может быть описана сферически симметричной волновой функцией.

К фотону неприменимо обычное определение спина. Поскольку, однако, фотон – квант векторного поля, а любое векторное поле пригодно для описания частицы со спином 1, то фотону удобно приписать спин $S = 1$.

$$(\vec{J} = \vec{L} + \vec{S})$$

Фотоны с определенным значением J называются $2J$ -польными (дипольными, если $J = 1$; квадрупольными, если $J = 2$; октупольными, если $J = 3$ и т.д.). Для данного J квантовое число орбитального момента L может принимать три значения: $L = J+1, J, J-1$ так как спин фотона $S = 1$.

Правила отбора

Полный момент количества движения и четность фотона

Четность фотона P_ϕ определяется правилом

$$P_\phi = (-1)^{L+1}.$$

Таким образом, фотоны с одинаковым J могут иметь различные значения орбитального момента, а следовательно, и четности. Фотоны, для которых орбитальный момент совпадает с полным, т. е. $L = J$, имеют четность $(-1)^{J+1}$ и называются магнитными (или кратко MJ) фотонами. Фотоны, для которых $L = J \pm 1$, имеют четность $(-1)^J$ и называются электрическими (или EJ) фотонами.

j	l	Четность = $(-1)^{l+1}$	Четность = $F(j)$	Классификационное название
0	1	(+)	$(-1)^l$	Продольное состояние (не суц-т).
1	0	(-)	$(-1)^l$	Электрический дипольный фотон
1	1	(+)	$(-1)^{j+1}$	Магнитный дипольный фотон.
1	2	(-)	$(-1)^l$	Продольное состояние (не суц-т).
2	1	(+)	$(-1)^l$	Электрический квадрупольный фотон.
2	2	(+)	$(-1)^{j+1}$	Магнитный квадрупольный фотон.
2	3	(-)	$(-1)^l$	Продольное состояние (не суц-т)

Правила отбора

Правила отбора для полного момента импульса:

$$\mathbf{J} = \mathbf{J}' + \mathbf{s}_\Phi,$$

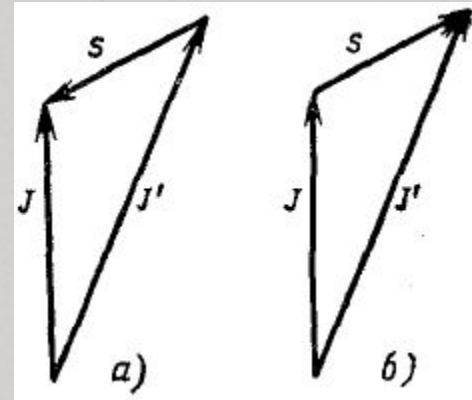
s – вектор спина фотона ($s = 1$)

Рассмотрим случай излучения фотона (дипольное):

$$|J'| \leq |J| + |s|$$

$$\sqrt{J'(J'+1)} \leq \sqrt{J(J+1)} + \sqrt{s(s+1)}.$$

Заменим J' на $J + \Delta J$
$$\Delta J^2 + (2J + 1)\Delta J - 2 \leq 2\sqrt{2J(J+1)}.$$



- 1) Не могут осуществляться переходы между состояниями с $J_1 = 0$ и $J_2 = 0$;
- 2) Если только один из моментов не равен нулю, например $J_1 \neq 0$, то $\Delta J = \pm 1$
- 3) Если же моменты импульсов $J_1 \neq 0$ и $J_2 \neq 0$, то $\Delta J = \pm 1, 0$

$$\Delta m_j \equiv m'_j - m_j = \pm 1 \quad \text{или} \quad 0.$$

Когда $\Delta J = \pm 1$ то излучается фотон с круговой поляризацией. Когда $\Delta J = 0$, то поляризация излучения получается линейной.

Правила отбора при поглощении фотона получаются таким же образом, как и при излучении.

$$\Delta J = \pm 1, 0 \quad (\text{дипольное излучение и магнитное излучение}),$$

$$\Delta J = \pm 2, \pm 1, 0 \quad (\text{квадрупольное излучение}).$$

Правила отбора

Правила отбора для моментов L и S:

В теории показывается, что взаимодействие фотона с собственным магнитным моментом электрона на несколько порядков слабее взаимодействия фотона с зарядом электрона. Излучение фотона в рассматриваемом диапазоне не связано с изменением S

$$\Delta S = 0.$$

$$\Delta L \equiv L' - L = \pm 1 \text{ или } 0,$$

Закон сохранения четности (правило Лапорте):

$$P_i P_f = P_\phi.$$

Для фотонов электрического типа $P_i P_f = (-1)^J.$

Для фотонов магнитного типа $P_i P_f = (-1)^{J+1}$

четные уровни \rightleftharpoons нечетные уровни (дипольное излучение)

четные уровни \rightleftharpoons четные уровни

нечетные уровни \rightleftharpoons нечетные уровни

(магнитное излучение и квадрупольное излучение).

$$s \rightleftharpoons p, p \rightleftharpoons d \text{ и } d \rightleftharpoons f.$$

$$4f^k 6s \text{ — } 4f^k 6p \text{ и } 4f^k 6s^2 \text{ — } 4f^k 6s 6p,$$

$$4f^k \text{ — } 4f^{k-1} 5d \text{ и } 4f^k 6s \text{ — } 4f^{k-1} 5d 6s,$$

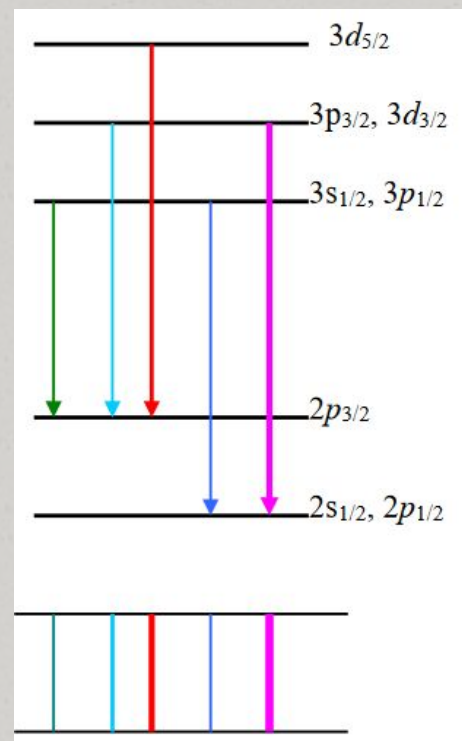
Правила отбора

Закон сохранения четности (правило Лапорте):

Все состояния одной электронной конфигурации обладают одинаковой четностью.

Следует, однако, еще подчеркнуть, что этот запрет относится к электрическому дипольному испусканию. Испускание электрических квадрупольных и магнитных дипольных квантов возможно и приводит к появлению в спектре так называемых запрещенных линий.

Рассмотрим переходы между состояниями водорода (тонкую структуру спектров в результате спин-орбитального взаимодействия).



Излучательные и безизлучательные переходы

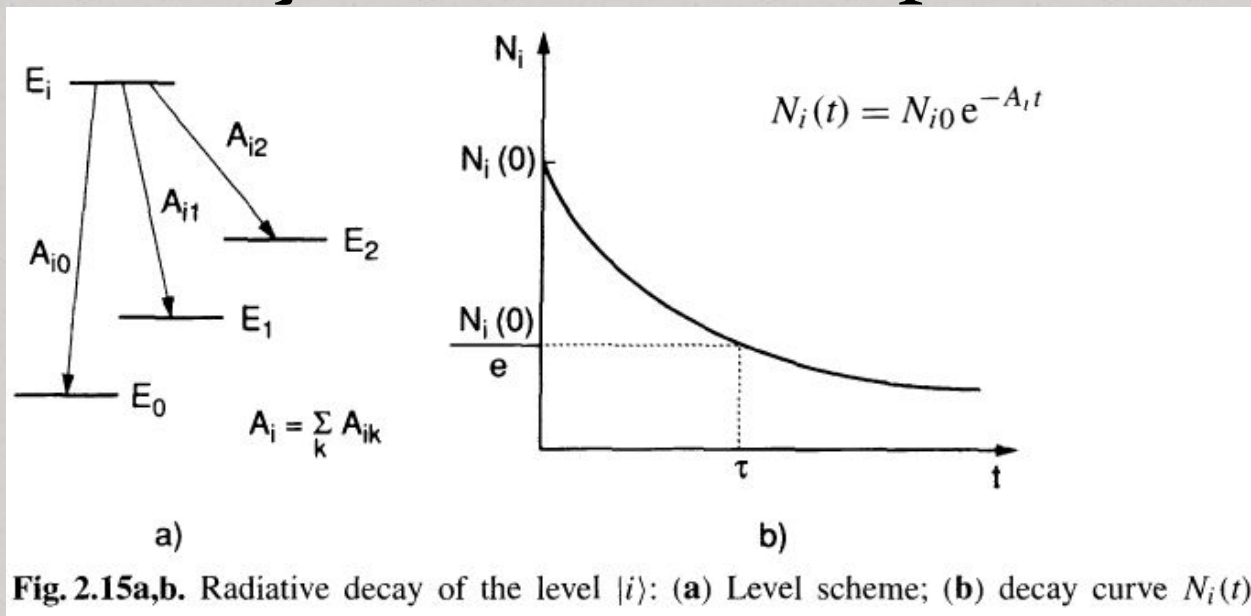


Fig. 2.15a,b. Radiative decay of the level $|i\rangle$: (a) Level scheme; (b) decay curve $N_i(t)$

Помимо излучательной релаксации возможно безизлучательная релаксация, а также индуцированное излучение

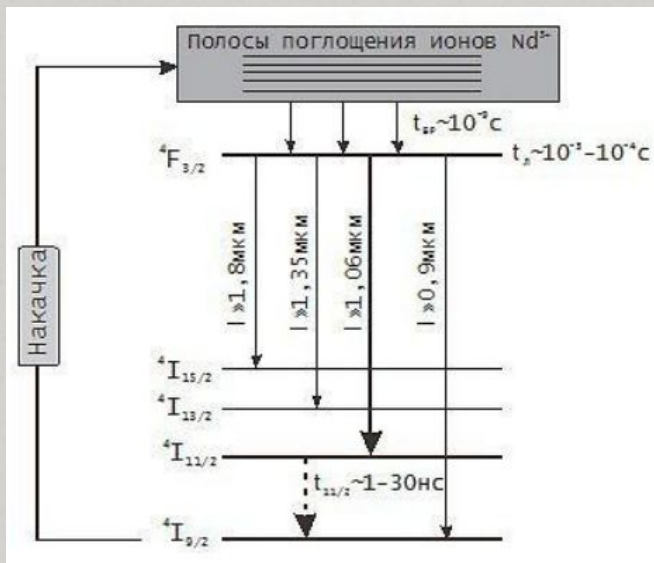
$$P_{ik} = N_i h \nu_{ik} A_{ik}$$

$$d\mathcal{P}_{ik}^{\text{coll}} / dt = \bar{\nu} N_B \sigma_{ik}^{\text{coll}}$$

$$d\mathcal{P}_{ik}^{\text{ind}} / dt = \rho(\nu_{ik}) B_{ik} [N_i - (g_i/g_k) N_k]$$

$$\frac{1}{\tau_i^{\text{eff}}} = \sum_k [A_{ik} + \rho(\nu_{ik}) B_{ik} (N_i - N_k g_i/g_k) + N_B \sigma_{ik} \bar{\nu}]$$

Коэффициент ветвления



$Nd^{3+}:SrMoO_4$

Переход	λ , нм	β
$^4I_{11/2} \rightarrow ^4I_{9/2}$	5405	100
$\tau ^4I_{11/2}$, c		56.03×10^{-3}
$^4I_{13/2} \rightarrow ^4I_{11/2}$	5000	38.5
$^4I_{13/2} \rightarrow ^4I_{9/2}$	2597	61.5
$\tau ^4I_{13/2}$, c		16.0×10^{-3}
$^4I_{15/2} \rightarrow ^4I_{13/2}$	4761	43.1
$^4I_{15/2} \rightarrow ^4I_{11/2}$	2439	42.8
$^4I_{15/2} \rightarrow ^4I_{9/2}$	1680	14.0
$\tau ^4I_{15/2}$, c		11.5×10^{-3}
$^4F_{3/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$	1851	0.4
$^4F_{3/2} \rightarrow ^4I_{13/2}$	1333	8.1
$^4F_{3/2} \rightarrow ^4I_{11/2}$	1052	44.1
$^4F_{3/2} \rightarrow ^4I_{9/2}$	881	47.4
$\tau ^4F_{3/2}$, c		0.18×10^{-3}
$^4F_{5/2} \rightarrow ^4F_{3/2}$	10000	<0.1
$^4F_{5/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$	1562	2.9
$^4F_{5/2} \rightarrow ^4I_{13/2}$	1176	18.5
$^4F_{5/2} \rightarrow ^4I_{11/2}$	952	14
$^4F_{5/2} \rightarrow ^4I_{9/2}$	809	64.7
$\tau ^4F_{5/2}$, c		0.14×10^{-3}

Квантовый выход люминесценции

Имеется только излучательная релаксация:

$$-dN_j = \sum_i A_{ji} N_j dt.$$

$$\frac{1}{\sum_i A_{ji}} = \tau_{\text{ЛИОМ}}.$$

$$\beta(J \rightarrow J') = \frac{A_{J \rightarrow J'}}{\sum A_{J \rightarrow J'}} = A_{J \rightarrow J'} \cdot \tau_r$$

Имеются еще и безызлучательные переходы:

$$-dN_j = \sum_i (A_{ji} + d_{ji}) N_j dt,$$

$$\tau'_{\text{ЛИОМ}} = \frac{1}{\sum_i (A_{ji} + d_{ji})}.$$

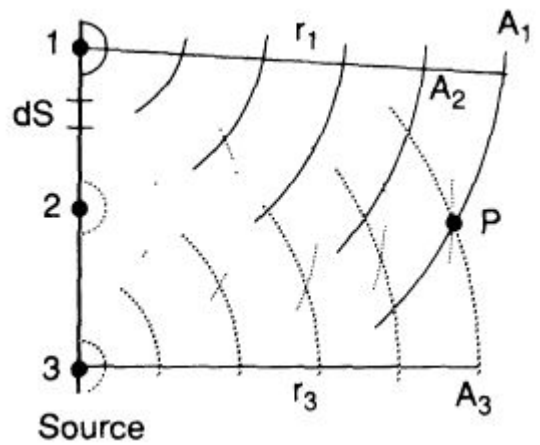
$$\tau'_{\text{ЛИОМ}} = \frac{1}{\sum_i A_{ji}} \sum_i \frac{A_{ji}}{A_{ji} + d_{ji}},$$

$$\tau'_{\text{ЛИОМ}} = \frac{\tau_{\text{ЛИОМ}}}{1 + \sum_i d_{ji}/A_{ji}}.$$

$$\eta = \sum_i \frac{1}{1 + d_{ji}/A_{ji}}.$$

Когерентные свойства излучения

Излучение, испускаемое протяженным источником S , создает в точке P поле с полной амплитудой A , которое является суперпозицией бесконечного числа элементарных волн с амплитудой A_n и фазой ϕ_n



$$A(P) = \sum_n A_n(P) e^{i\phi_n(P)} = \sum_n [A_n(0)/r_n^2] e^{i(\phi_{n0} + 2\pi r_n/\lambda)},$$

$$\phi_{n0}(t) = \omega t + \phi_n(0)$$

Если в данной точке P разность фаз для двух различных моментов времени практически одинакова для всех элементарных волн, то говорят, что поле излучения в точке P обладает *временной когерентностью*.

$$\Delta\phi_n = \phi_n(P, t_1) - \phi_n(P, t_2)$$

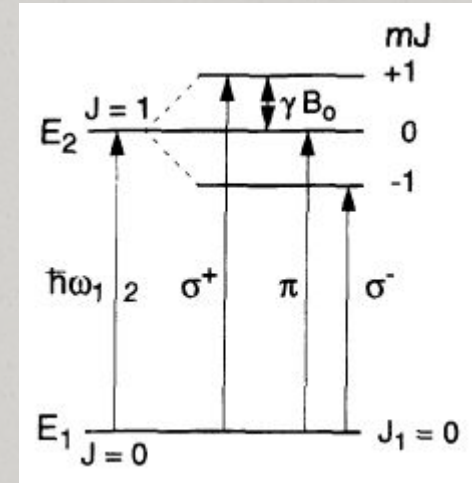
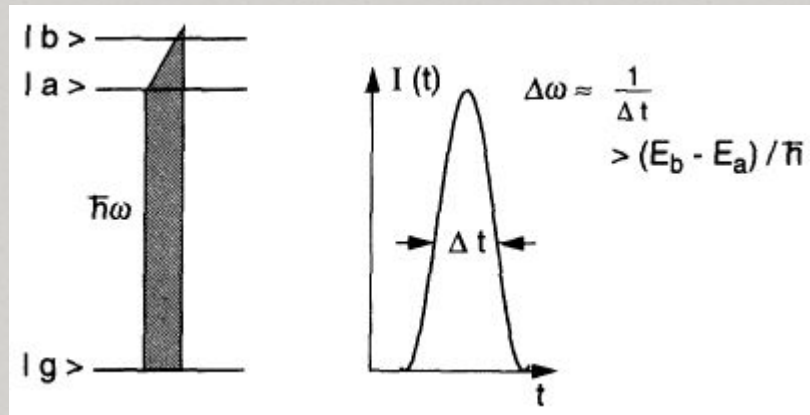
Если разность фаз для полных амплитуд в двух различных точках P_1 , P_2 постоянна и не зависит от времени, то поле излучения *пространственно когерентно*.

$$\Delta\phi = \phi(P_1) - \phi(P_2)$$

Вводятся понятия времени когерентности, длины когерентности и объема когерентности.

Когерентность атомных систем

Два уровня атома принято называть когерентно возбужденными, если их соответствующие волновые функции за время возбуждения совпадают по фазе.



Волновая функция возбужденного атома есть линейная комбинация волновых функций и говорят, что атом находится в когерентной суперпозиции двух состояний.

$$\psi(r, t) = \psi_a + \psi_b = a(t)u_a e^{-iE_a t/\hbar} + b(t)u_b e^{-i[(E_b/\hbar)t - \phi]}$$

Когерентность атомных систем

Волновая функция «когерентного суперпозиционного состояния» при $t = 0$:

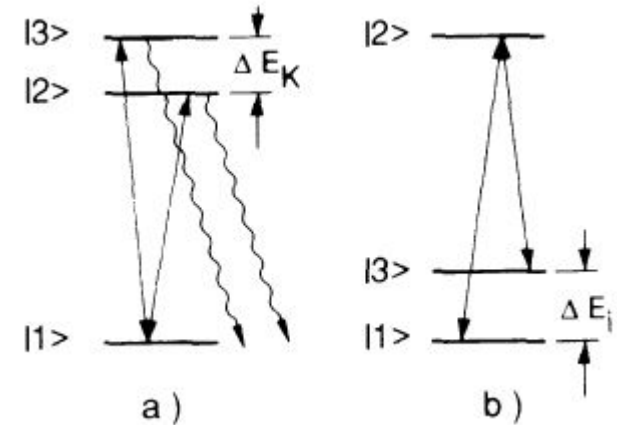
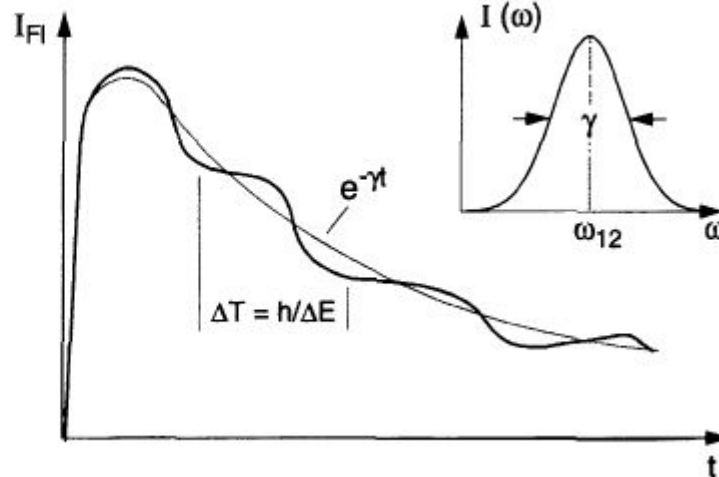
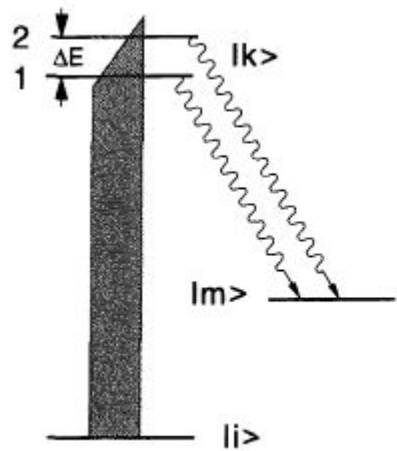
$$\psi(t = 0) = \sum c_k \psi_k(0) = c_1 \psi_1(0) + c_2 \psi_2(0),$$

$$\psi(t) = \sum c_k \psi_k(0) e^{-(i\omega_{km} + \gamma_k/2)t}, \quad \text{with } \omega_{km} = (E_k - E_m)/\hbar.$$

Если детектор измеряет полную флуоресценцию с обоих уровней:

$$S(t) \propto I(t) = C |\langle \psi_m | \epsilon \cdot \mu | \psi(t) \rangle|^2.$$

$$I(t) = C e^{-\gamma t} (A + B \cos \omega_{21} t),$$

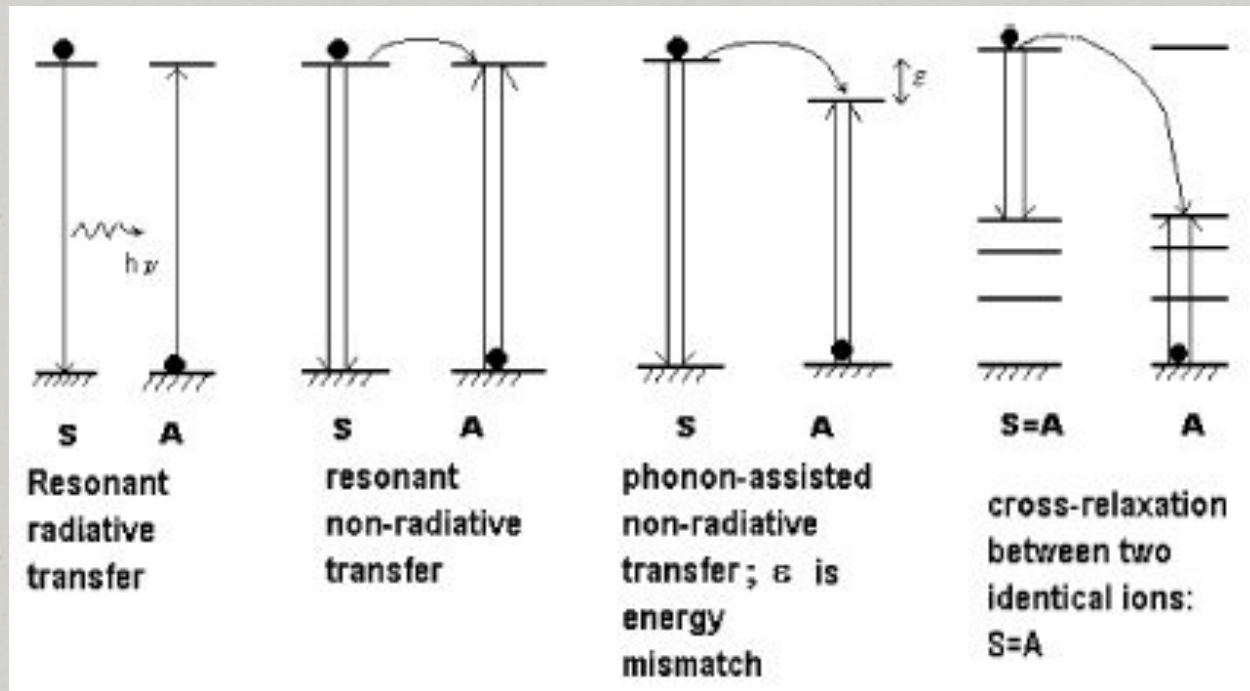


Процессы передачи энергии

Chem. Rev. 2004, 104, 139–173

Upconversion and Anti-Stokes Processes with f and d Ions in Solids

François Auzel



Вероятность передачи энергии от расстояния между сенсбилизатором и активатором:

$$P_{SA}(R) = \frac{\sigma_A}{4\pi R^2 \tau_S} \int g_S(\nu) g_A(\nu) d\nu$$

Тушение люминесценции

$$\tau'_{\text{ЛЮМ}} = \frac{\tau_{\text{ЛЮМ}}}{1 + \sum_i d_{ji}/A_{ji}}$$

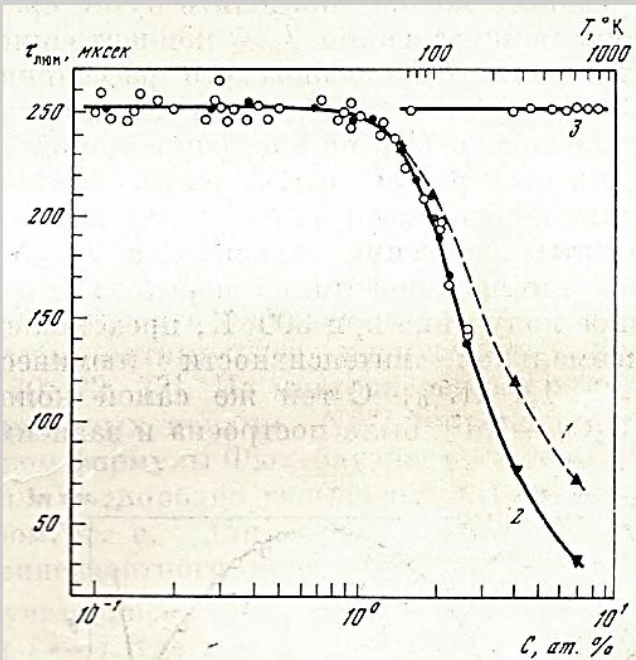
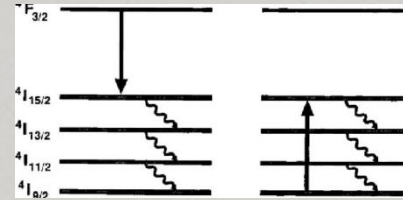


Рис. 6.3

Зависимость $\tau_{\text{ЛЮМ}}(C)$ (кривые 1 и 2) и $\tau_{\text{ЛЮМ}}(T)$ (кривая 3) состояния ${}^4F_{3/2}$ понов Nd^{3+} в кристалле $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$

- 1 — $T = 4,2^\circ \text{K}$;
- 2 — $T = 77$ и 300°K ;
- 3 — $C \approx 0,3$ ат. %.

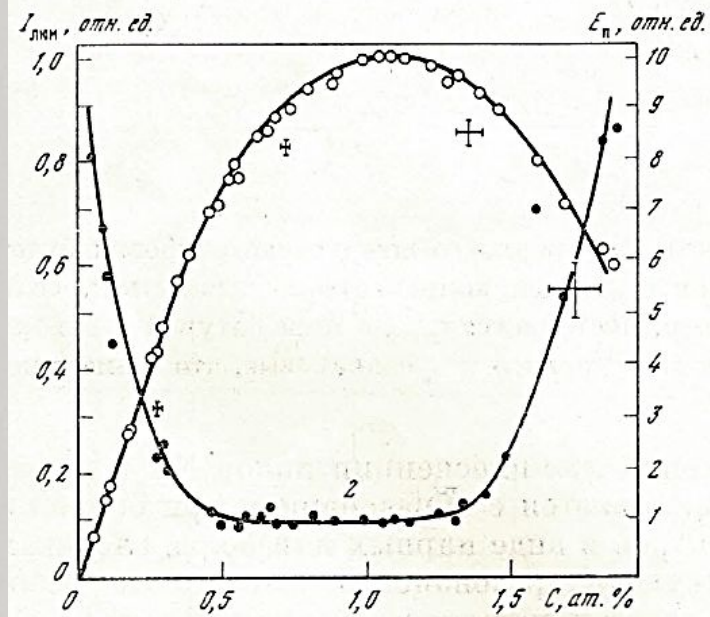
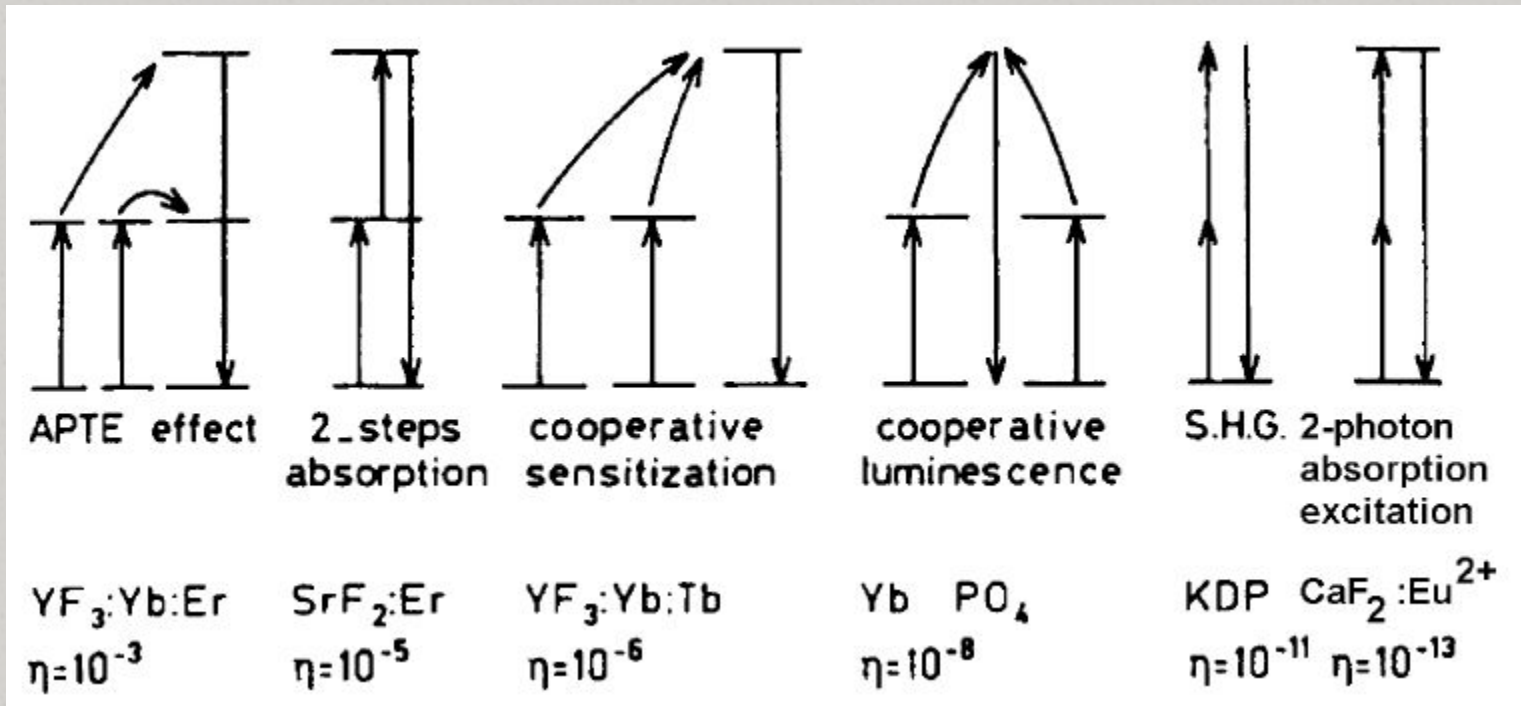


Рис. 6.4

Зависимость интенсивности линии люминесценции $10\ 641,5 \text{ \AA}$ (1) и порога возбуждения (2) связанной с ней линией генерации А

Кристалл $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12} - \text{Nd}^{3+}$, переход ${}^4F_{3/2} \rightarrow {}^4I_{11/2}$, $T = 300^\circ \text{K}$

Процессы апконверсии



APTE - Addition de Photons par Transferts d'Energie (Energy transfer upconversion)

Процессы апконверсии

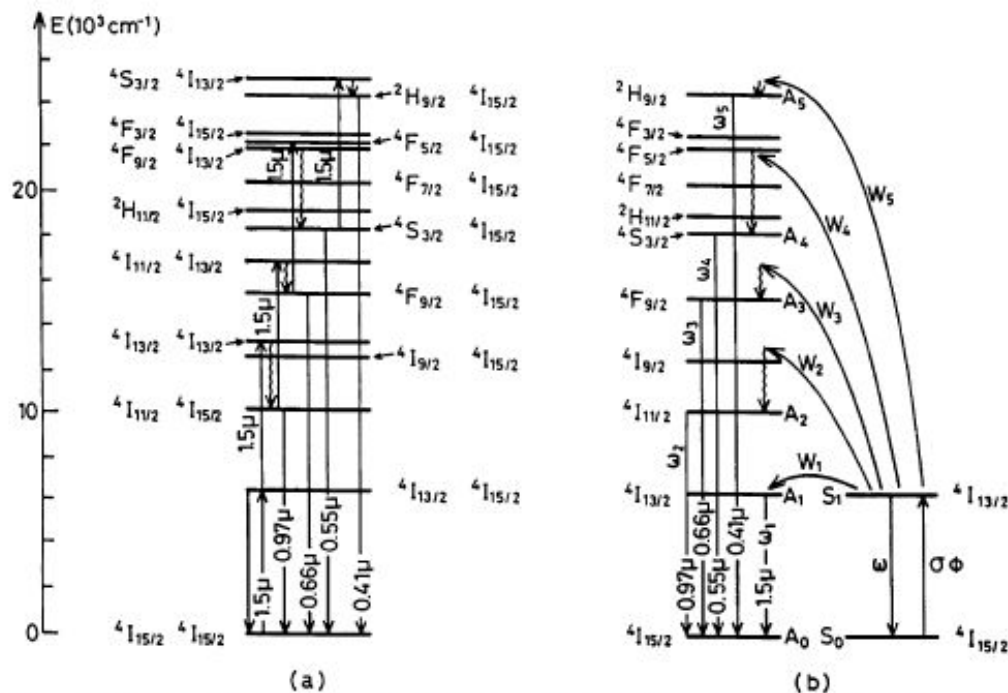


Figure 5. Cooperative (a) and APTE (b) energy scheme for n -photon ($n = 1-5$) upconversion in Er^{3+} -doped hosts.

Процессы апконверсии

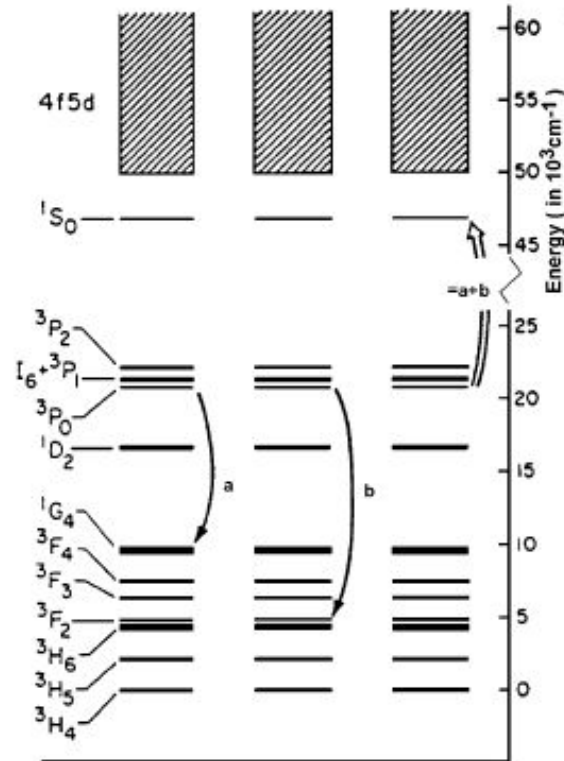
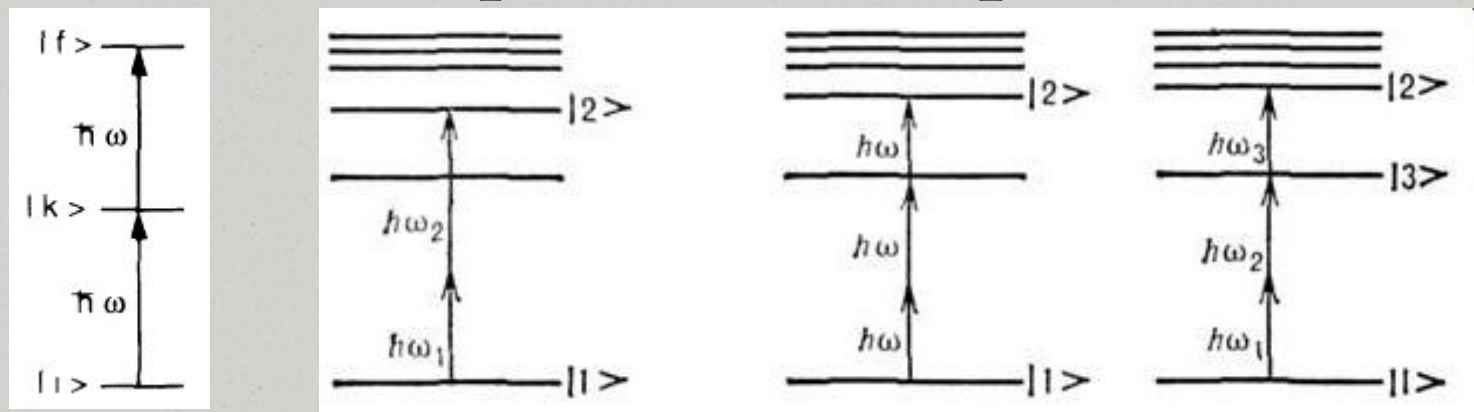


Figure 7. Cooperative luminescence and APTE (activator ion already in an excited state) cooperative sensitization in $\text{LaF}_3:\text{Pr}^{3+}$ system. (Reprinted with permission from ref 75. Copyright 1984 American Physical Society.)

Многофотонные процессы



Сечение двухквантового поглощения на одну молекулу [см⁴сек]

$$\delta_{21}^{ab}(\omega_a, \omega_b) = W_{21}^{ab} / N F_a F_b$$

W -вероятность двухфотонного перехода в ед. времени; N -плотность поглощающих частиц; F -поток квантов излучения

Световой поток уменьшается не по экспоненте, а по гиперболе при ($a=b$)

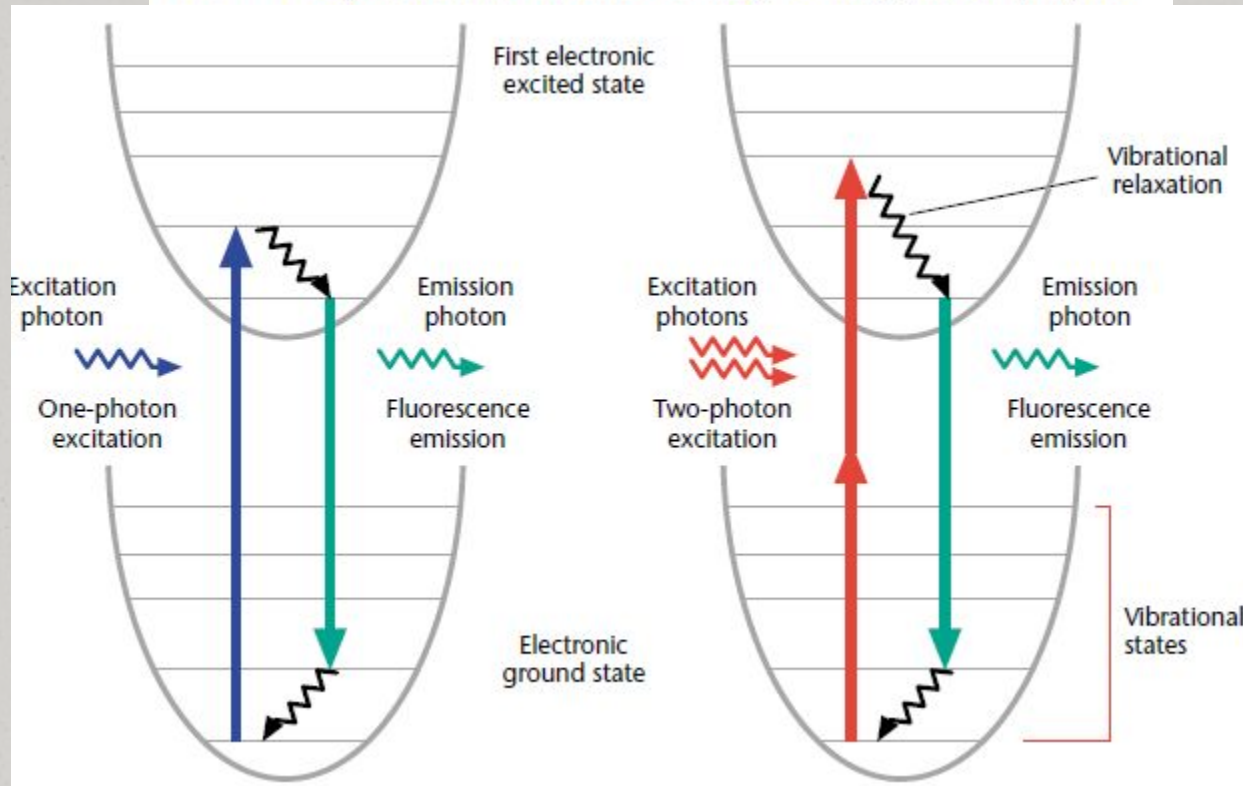
$$F(x) = F_0 / (1 + k_2 x), \quad k_2 = \delta N F_0,$$

Однако часто поглощение настолько мало, что можно воспользоваться линейным приближением

$$F(x) \approx F_0 (1 - k_2 x),$$

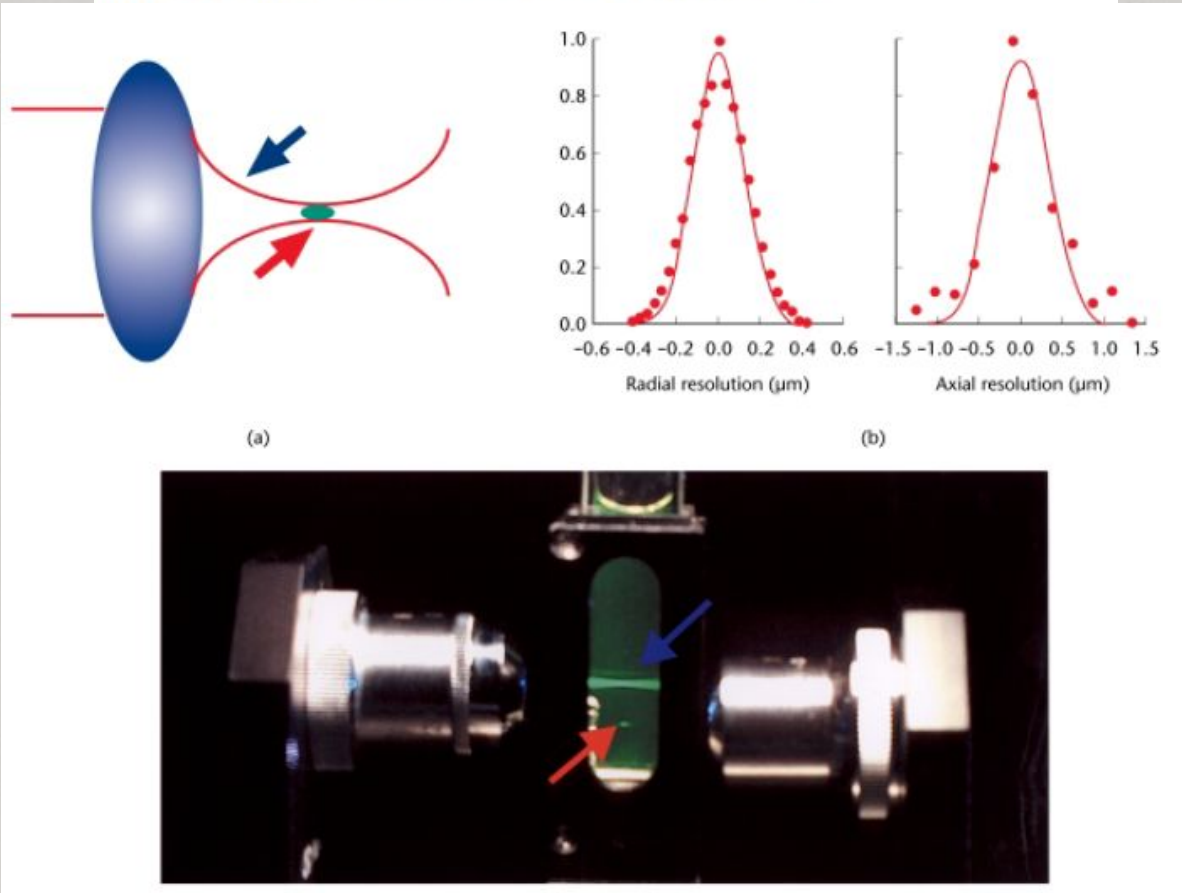
Two-photon Fluorescence Light Microscopy

Peter TC So, *Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA*



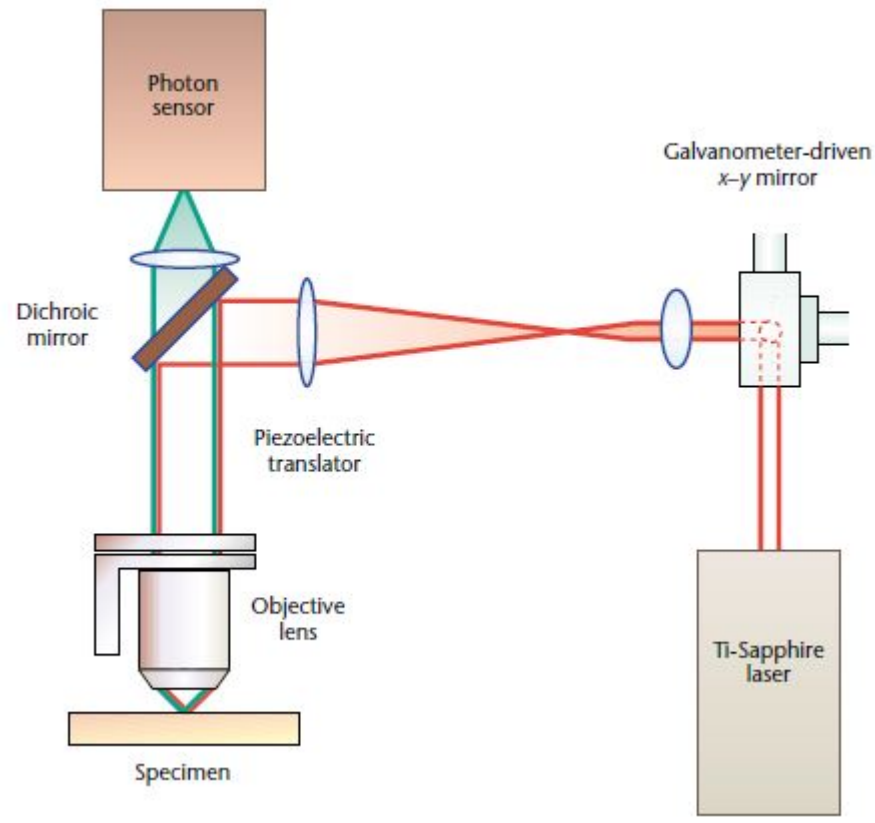
Для исследования клеток и тканей вместо УФ излучения и излучения синего-зеленого диапазона используется мощный источник ИК излучения.

Two-photon Fluorescence Light Microscopy



Возможность воспроизводить трехмерную картину объекта

Two-photon Fluorescence Light Microscopy



Возможность воспроизводить трехмерную картину объекта

Multiphoton fluorescence excitation: New spectral windows for biological nonlinear microscopy

CHRIS XU, WARREN ZIPFEL, JASON B. SHEAR*, REBECCA M. WILLIAMS, AND WATT W. WEBB

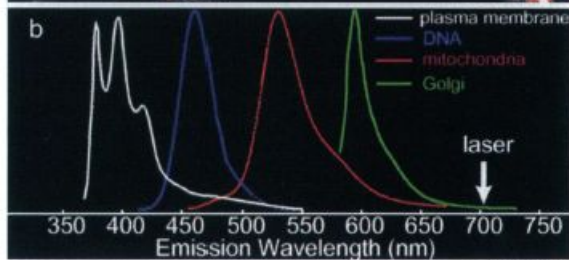
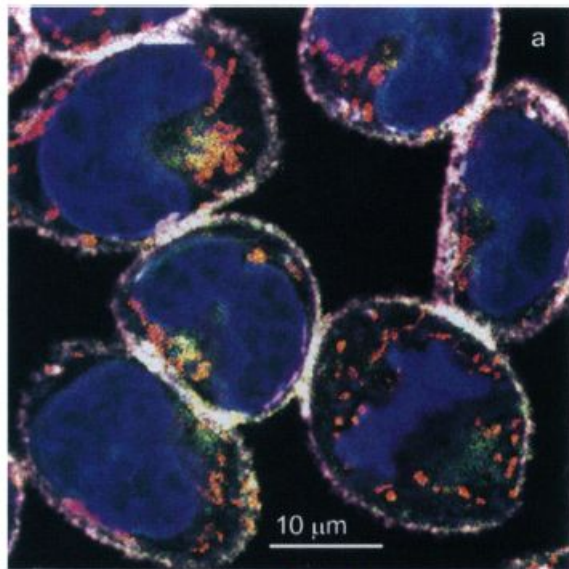


FIG. 5. (*Upper*) Four-color staining of plasma membrane, nuclei, Golgi complex, and mitochondria in rat basophilic leukemia (RBL) cells visualized with two-photon illumination. RBL cells were incubated with four different stains: a plasma membrane label (pyrene lysophosphatidylcholine), a nuclear stain (DAPI), a Golgi label (Bodipy sphingomyelin), and a mitochondrial stain (rhodamine 123). The image was obtained by using a modified Bio-Rad MRC-600 confocal microscope to scan the excitation beam (705 nm, ≈ 120 -fs pulsewidth, 1–5 mW at the sample) through a $\times 40$ /numerical aperture (n.a.) 1.3 oil-immersion objective. Epifluorescence was collected by using nondescanned external detection into four channels: 400 nm, 30 nm full width at half maximum (FWHM) (pyrene fluorescence, white); 440 nm, 50 nm FWHM (DAPI fluorescence, blue); 530 nm, 30 nm FWHM (rhodamine 123 fluorescence, red/orange) and 580 nm, 30 nm FWHM (Bodipy fluorescence, green). (*Lower*) Approximate emission spectra of the dyes used (color coded as in the image) and the excitation laser wavelength.

Лейкозная клетка крысы