

NORGES TEKNISK-NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET
 INSTITUTT FOR FYSIKK

Faglig kontakt under eksamen:

Navn: Bjørn Torger Stokke

Tlf: 735 93434

EKSAMEN I EMNE TFY4265 BIOFYSISKE MIKROTEKNIKKER

Fredag 5. desember 2003

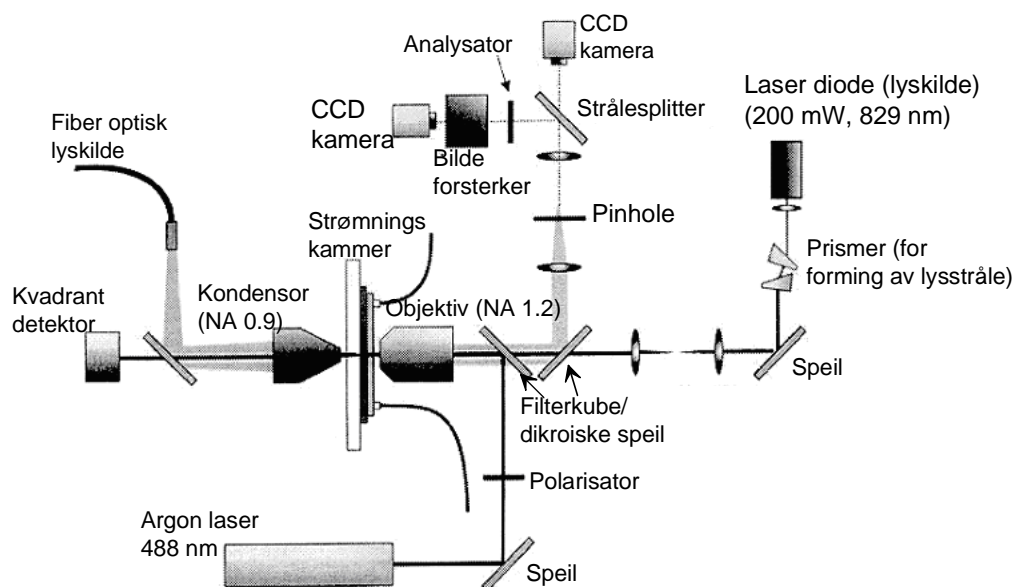
Tid: kl. 0900 – 1400.

Tillatte hjelpemidler: C- Typegodkjent kalkulator med tomt minne.
 O. Jähren og K.J. Knutsen: Formelsamling i matematikk
 K. Rottmann: Mathematische Formelsammlung
 K. Rottmann; Matematisk formelsamling
 S. Barrett og T.M. Cronin: Mathematical Formulae

Oppgavetekst: s1-3: Bokmål., s. 4-6: Nynorsk, Formler: s.7-8

Sensur faller i uke 2, 2004

OPPGAVE 1.



Figur 1. Skjematisk skisse av optisk oppsett.

Figur 1 viser et optisk oppsett med komponenter som kan brukes på ulike vis. Ikke alle viste komponenter trenger å være innsatt i lysgangen slik det er angitt i Figur 1 for en enkelt anvendelse. For noen metoder vil en også kunne trenge ytterligere komponenter.

- a) Identifiser hvilke komponenter i Figur 1 du vil bruke i et oppsett for epi-illuminerings fluorescens mikroskopi, lag en skisse av oppsettet, identifiser eventuelle tilleggskomponenter og sett også disse inn på rett plass. Anta at det fluorescerende stoffet som skal brukes har et maksimum i eksitasjonsspekteret ved 470 nm. Den innbyrdes plassering av de brukte komponentene fra Fig. 1 skal være som vist der. Angi egenskapene til de ulike elementene i filterkuben/dikroiske speil som trengs i oppsettet begrunnet ut fra en kort beskrivelse av fluorescens.
- b) Anta samme egenskaper til det fluorescerende stoffet som angitt i oppgave 1a. Identifiser hvilke komponenter i figur 1 du vil bruke i et oppsett for konfokal-laser scanning (fluorescens) mikroskopi, lag en skisse av plassering av de delene av oppsettet som trengs, identifiser eventuelle tilleggskomponenter og sett også disse inn på rett plass. Gi en begrunnelse for det skisserte oppsettet ut fra prinsippet om konfokal mikroskopi. Dette oppsettet skal deretter endres slik at det kan brukes for to-(og multi)-foton fluorescens mikroskopi. Gi en kort beskrivelse av to- og multifoton fluorescens mikroskopi. Angi hvilke optiske komponenter som trengs, og hvordan egenskapene til de optiske elementer og andre komponenter må være i dette tilfellet.
- c) Identifiser hvilke komponenter i figur 1 du vil bruke i et oppsett for optiske pinsetter. Lag en skisse av oppsettet for optiske pinsetter og beskriv funksjonen til de ulike delene. Gi en kortfattet beskrivelse av grunnleggende prinsipper for optiske pinsetter.

OPPGAVE 2.

- a) Gi en kortfattet beskrivelse av generell oppbyggingen og virkemåten til et ”atomic force” mikroskop (AFM) når det brukes for bestemmelse av struktur. Gjør rede for hvordan egenskapene til de ulike hovedkomponentene er med på å bestemme oppløsning ved bestemmelse av struktur til biologiske prøver. Hva skjer ved bruk av tapping mode i væsker, og hvordan kan vi kompensere for dette ?
- b) Gjør rede for hvordan en kan anvende AFM for bestemmelse av elastiske egenskaper til celler (eller andre biologiske prøver med dimensjoner i området 1 – 50 micrometer), biologiske makromolekyler, og vekselvirkninger mellom par av biologiske makromolekyler. Klargjør kort hvordan en kan analysere data ved kompresjon (sammenklemming) og strekking i denne sammenheng.

OPPGAVE 3.

- a) Gjør rede for hvilke type elektron-prøve vekselvirkning som en kan dra nytte av i elektronmikroskopi. Hvilke type vekselvirkninger benyttes i de ulike typer elektron mikroskopi ? Hva slags informasjon oppnås ved hjelp av røntgen-mikroanalyse, og beskriv den fundamentale prosessen som gir opphav til de observerte fenomen.
- b) Skisser oppbyggingen av en unipotensial, elektrostatisk elektronlise, og gi en forklaring på hvorfor en slik linse alltid er en samlelinse.

OPPGAVE 4.

Figur 2 viser en skjematisk skisse av et motor protein (dynein) som beveger seg langs mikrotubulus, og figur 3 en illustrasjon av dynamisk endring av lengden av mikrotubuli ut fra de globulære proteinene de består av.

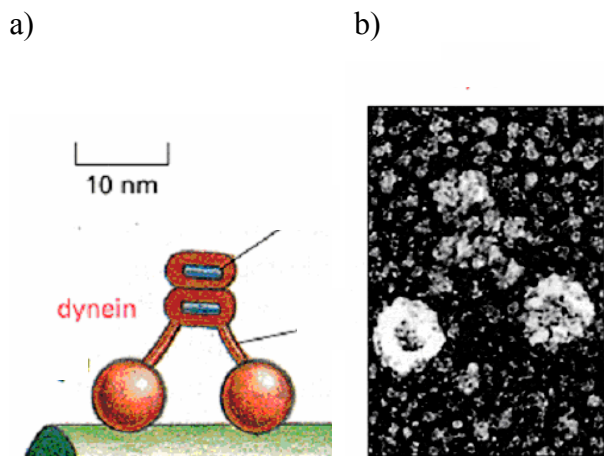


Fig. 2: Skjematisk illustrasjon av motorproteinet dynein (a), og et EM-bilde av dynein (b)

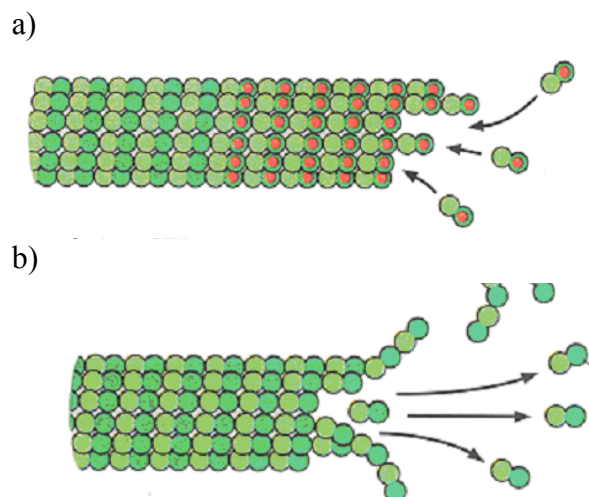
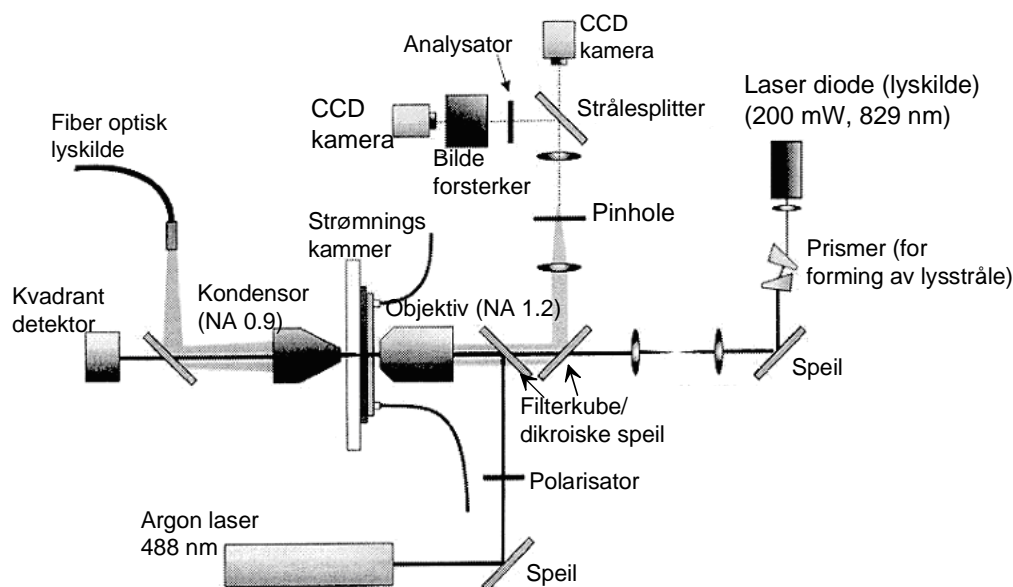


Fig. 3 Skjematisk illustrasjon av forlengelse (a) og forkortelse (b) av mikrotubulus ved $\alpha\beta$ heterodimere av globulære tubulin legges til (a) (GTP-formen av $\alpha\beta$ tubulin) eller dissosierer (b) (GDP-formen av $\alpha\beta$ -tubulin) fra pluss-enden av mikrotubuli. Ytre diameter på mikrotubulus er ca 25 nm.

Beskriv to ulike eksperimentelle oppsett som har til hensikt å bestemme bevegelse av dynein langs mikrotubulus. Angi hovedkomponentene i teknikkene du foreslår å bruke, hvilke parametre i oppsettet som er kritisk for resultatet med hensyn til oppløsning, angi om makromolekylene behøver merkes, og hvordan du vil foreslå å gjennomføre eksperimentet for å kunne bestemme vandringshastighet og retning til dynein i forhold til retning av mikrotubulus.

OPPGÅVE 1.



Figur 1. Skjematisk skisse av optisk oppsett.

Figur 1 viser eit optisk oppsett med delar som kan nyttas på ulike måtar. Ikkje alle delane trengs nyttas slik det er vist i Figur 1 for ein einiskild type bruk. For noen metoder vil det også kunne være naudsynt med fleire delar.

- Identifiser hvilke delar i Figur 1 du vil bruke i eit oppsett for epi-illuminerings fluorescens mikroskopi, lag ei skisse av oppsettet, identifiser eventuelle ytterligere delar og sett dei inn på rett plass. Anta at det fluorescerende stoffet som skal brukast har eit maksimum i eksitasjonsspekteret ved 470 nm. Den innbyrdes plassering av dei delane fra Fig. 1 som nyttas skal være som vist der. Angi eigenskapene til de ulike delane i filterkuben/dikroiske speil som trengs i oppsettet, og grunnlegg dette ut fra en kort omtale av fluorescens.
- Anta samme eigenskaper til det fluorescerende stoffet som gitt i oppgave 1a. Klargjer hvilke delar i figur 1 du vil nytta i eit oppsett for konfokal-laser scanning (fluorescens) mikroskopi, lag ei skisse av plassering av dei delane av oppsettet som trengs, kartlegg eventuelle tilleggsdelar og sett også disse inn på rett plass. Grunnlegg det skisserte oppsettet ut fra prinsippet om konfokal mikroskopi. Dette oppsettet skal vidare byggas om slik at det kan brukes for to-(og multi)-foton fluorescens mikroskopi. Gi en kort omtale av to- og multifoton fluorescens mikroskopi. Angi hvilke optiske delar som trengs, og korleis eigenskapene til de optiske elementer og andre delar må være i dette tilfellet.
- Identifiser kva for delar i figur 1 du vil nytta i eit oppsett for optiske pinsetter. Lag ei skisse av oppsettet for optiske pinsetter og beskriv funksjonen til dei ulike delene. Gi ei kortfatta beskrivelse av grunnleggande prinsipper for optiske pinsetter.

OPPGÅVE 2.

- a) Gje ei kortfatta beskrivelse av generell oppbyggingen og virkemåten til eit "atomic force" mikroskop (AFM) når det nyttas for bestemmelse av struktur. Gjer greie for korleis eigenskapar til de ulike hovuddelane er med på å bestemme oppløsning ved bestemmelse av struktur til biologiske prøver. Kva skjer ved bruk av tapping mode i væsker, og korleis kan ein kompensere for dette ?
- b) Gjer greie for korleis ein kan nytta AFM for bestemmelse av elastiske eigenskapar til celler (eller andre biologiske prøver med utstrekninger i området 1 – 50 micrometer), biologiske makromolekyler, og vekselvirkningar mellom par av biologiske makromolekyler. Klargjer kort korleis ein kan analysere data ved kompresjon (sammenklemming) og strekking i denne samanhang.

OPPGAVE 3.

- a) Gjer greie for ulike type elektron-prøve vekselvirkning som kan nyttast i elektronmikroskopi. Hvilken type vekselvirkningar nyttast i dei ulike typar elektron mikroskopi ? Kva slag informasjon oppnås ved hjelp av røntgen-mikroanalyse, og gjer greie for den fundamentale prosessen som ligg under dei observerte fenomen.
- b) Skisser oppbyggingen av ei unipotensial, elektrostatisk elektronlise, og gje ei forklaring på hvorfor ei slik linse alltid er ei samlelinse.

OPPGÅVE 4.

Figur 2 viser ei skjematisk skisse av eit motor protein (dynein) som rør seg langs mikrotubulus, og figur 3 en illustrasjon av dynamisk endring av lengda av mikrotubuli ut fra de globulære proteinene dei er samansatt av.

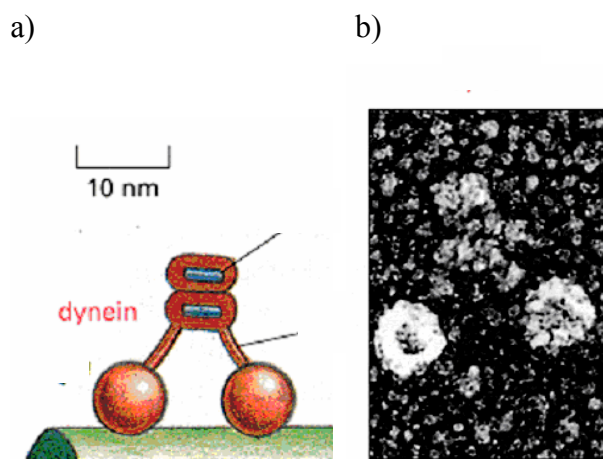


Fig. 2: Skjematiske illustrasjon av motorprotein dynein (a), og et EM-bilde av dynein (b)

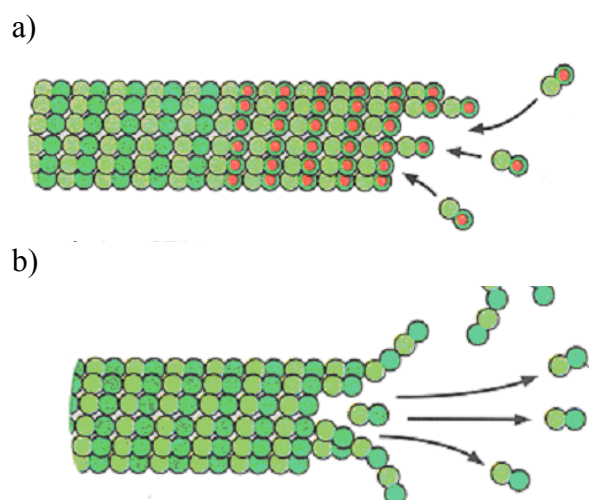


Fig. 3 Skjematiske illustrasjon av forlengelse (a) og forkortelse (b) av mikrotubulus ved $\alpha\beta$ heterodimere av globulære tubulin legges til (a) (GTP-formen av $\alpha\beta$ tubulin) eller dissosierer (b) (GDP-formen av $\alpha\beta$ -tubulin) fra pluss-enden av mikrotubuli. Ytre diameter på mikrotubulus er ca 25 nm.

Beskriv to ulike eksperimentelle oppsett kor målsettinga er å bestemme rørsle av dynein langs mikrotubulus. Ange hovuddelane i teknikkene du foreslår å bruke, kva for parametre i oppsettet som er kritisk for resultatet med omsyn til oppløsning, angi om makromolekylene trengs merkast, og korleis du vil foreslå å gjennomføre eksperimentet for å kunne bestemme vandringhastighet og retning til dynein i forhold til retning av mikrotubulus.

Oppgitte formler. Definer alle størrelser i de du eventuelt bruker.

$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad \nabla \cdot \vec{B} = 0$$

$$\nabla \times \vec{H} = \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \quad \nabla \cdot \vec{D} = \rho$$

$$\vec{E} = \vec{E}_0 \exp\left\{-j(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)\right\} \quad I = \left\langle \vec{E} \times \sqrt{\frac{\epsilon}{\mu}} \left(\vec{e}_k \times \vec{E} \right) \right\rangle = \sqrt{\frac{\epsilon}{\mu}} \langle E^2 \rangle = \epsilon c \langle E^2 \rangle$$

$$hf (eV) = \frac{1240}{\lambda (nm)}$$

$$p = hv / c = h / \lambda$$

$$c = 1 / \sqrt{\epsilon_0 \epsilon_r \mu_0} = c_0 / \sqrt{\epsilon_r} \quad n = c / c_0 = 1 / \sqrt{\epsilon_r}$$

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M} (1 + 2Bc + \dots) \frac{1}{P(\theta)} = \frac{1}{M} (1 + 2Bc) \left(1 + \frac{16\pi^2}{3\lambda_1^2} \sin^2(\theta/2) R_G^2 \right)$$

$$\Phi(P) = \Phi_0 \frac{1}{r_0} e^{-jkr_0} \iint_{\text{spherical surface}} \frac{1}{r} e^{-jkr} k(\theta) dA$$

$$\Omega = \Omega(x, y) = |\Omega(x, y)| e^{j\varphi(x, y)} \quad k_R = \frac{1}{\tau_M} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6$$

$$\phi(\vec{r}) \approx C_1 \frac{1}{r} e^{-jkr} \quad w(z) = w_0 \left(1 + \left(\frac{z}{\pi w_0^2} \right)^2 \right)^{1/2}$$

$$\phi(P) \propto \Pi \left(\frac{\alpha - \alpha_0}{\lambda}, \frac{\beta - \beta_0}{\lambda} \right) * \Omega \left(\frac{\alpha - \alpha_0}{\lambda}, \frac{\beta - \beta_0}{\lambda} \right)$$

$$g_u(x_2, y_2) = \iint_{-\infty} g_i(x_1, y_1) h(x_2, y_2; x_1, y_1) dx_1 dy_1$$

$$g_u = g_i * h \quad G_u = G_i \cdot H$$

$$h(x_i, y_i; x_0, y_0) = k \delta(x_i + Mx_0, y_i + My_0)$$

$$H(X, Y) = \begin{cases} \pm j\alpha & \text{at } X^2 + Y^2 = R \\ 1 & \text{elsewhere} \end{cases}$$

$$g(x, y) \cong 1 + j\varphi(x, y)$$

$$I(x_u, y_u) \propto |\pm j\alpha + j\varphi(x_u, y_u)|^2 \cong \alpha^2 \pm 2\alpha\varphi(x_u, y_u)$$

$$H(X, Y) = \begin{cases} 1 & \text{for } Y > Y_0 \\ \frac{0.85}{Y_0} Y + 0.15 & \text{for } Y \in [-0.16Y_0, Y_0] \\ 0.01 & \text{for } Y \leq -0.16Y_0 \end{cases}$$

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos[2kh(x) \cos \nu + \delta]$$

$$h(x) = h_0 + R - \sqrt{R^2 - x^2}$$

$$d = \frac{\lambda_0}{4\pi \sqrt{n_3^2 \sin^2 \theta_3 - n_1^2}}$$

$$w(r) = -u_1 u_2 \frac{2 \cos \theta_1 \cos \theta_2 - \sin \theta_1 \sin \theta_2 \cos \phi}{4\pi \epsilon_0 r^3}$$

$$e^{-w(r)/kT} = \frac{\int e^{-w(r,\Omega)/kT} d\Omega}{\int d\Omega} = \frac{1}{4\pi} \int e^{-w(r,\Omega)/kT} d\Omega = \langle e^{-w(r,\Omega)/kT} \rangle$$

$$w(r) = \frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6} = 4 \in [(\sigma/r)^{12} - (\sigma/r)^6]$$

$$P = \vec{d} \sigma + \epsilon_0 \vec{\chi} E \quad K_y = \frac{2\sqrt{2} d_{13} L^2}{\pi D h}$$

$$f_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} = \frac{1}{4\pi} \frac{t}{l^2} \sqrt{\frac{E}{\rho}}$$

$$\chi(\omega) = \frac{\omega_0^2 / k}{\omega_0^2 - \omega^2 + j \omega_0 \omega / Q}$$

$$Q = \frac{m \omega_0}{\gamma} = \frac{\sqrt{km}}{\gamma}$$

$$m \frac{d^2 z}{dt^2} + \gamma \frac{dz}{dt} + (k - f') z = F_0 \sin \omega t$$

$$W(D) = -\frac{2\pi^2 C \rho^2}{(n-2)(n-3)} \int_{z=0}^{z=2R} \frac{(2R-z)z dz}{(D+z)^{n-3}} = -\frac{2\pi C \rho (4\pi R^3 \rho / 3)}{(n-2)(n-3) D^{n-3}}$$

$$F(D) = \frac{4\pi}{\epsilon \epsilon_0} R \kappa^{-1} \sigma_R \sigma_S e^{-D\kappa}$$

$$F(D)_{\text{sphere-plane}} = 2\pi R W(D)_{\text{plane-plane}}$$

$$F_C = \frac{4E\sqrt{R}}{3(1-\nu)} \delta^{3/2} = \frac{4\sqrt{R}}{3\pi k_s} \delta^{3/2}$$

$$p(f) = \frac{1}{r_f} k_{\text{off}}(F) \exp\left[-\frac{1}{r_f} \int_0^F k_{\text{off}}(F') dF'\right]$$

$$[k_{\text{off}}]_{F=F^*} = r_f \left[\partial \ln k_{\text{off}} / \partial f \right]_{F=F^*}$$

$$F^* = F_\beta \ln(r_f / r_f^0) \quad I(z) = I(0) e^{-z/d}$$

$$j\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi(\vec{q}, t) = H(\vec{p}_{op}, \vec{q}_{op}, t) \Psi(\vec{q}, t)$$

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_e}} \frac{1}{\sqrt{E_k}} = \frac{1.2 \text{ nm}}{\sqrt{E_k / eV}}$$

$$\Delta E = \frac{2m_e}{M_A} \left(2 + \frac{E_k}{m_e c^2} \right) E_k \sin^2(\theta/2)$$

$$\left(\frac{dL_z}{dt} \right)_{\text{Particle trajectory}} = -\frac{q}{2\pi} \left(\frac{d\Phi_B}{dt} \right)_{\text{Particle trajectory}}$$

$$\frac{\partial^2 r}{\partial z^2} + \frac{\partial V(0, z) / \partial z}{2V(0, z)} \frac{\partial r}{\partial z} + \frac{\partial^2 V(0, z) / \partial z^2}{4V(0, z)} r - \frac{qB_z^2(0, z)}{8mV(0, z)} r = 0$$

$$\frac{1}{f_2} = -\frac{q}{8mV(0, z)} \int_{z_1}^{z_2} B_z^2(0, z) dz$$