

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 3. desember 2004

Tid: kl. 15.00 – 19.00.

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

En del formler følger som en del av oppgavesettet.

Sensur faller i uke 53, 2004

OPPGAVE 1. (Vekt 2)

- a) Lag en skisse som viser lysgangen gjennom et lysmikroskop som er innstilt i følge Köhlers belyningsprinsipp. Angi navn på de ulike linser, blendere og andre komponenter, og deres innbyrdes plassering. Formuler Köhlers belyningsprinsipp og angi begrunnelsen for dette prinsippet. Hvordan kontrolleres oppløsningsevnen i lysmikroskopi innstilt i følge Köhlers belyningsprinsipp?
- b) Gjør rede for den dominerende vekselvirkningen mellom lys og objekt (prøve) når man har et rent amplitude objekt, og et rent faseobjekt. Lag en skisse av som viser lysgangen i de delene av et lysmikroskop som er viktigst for kontrastdannelsen ved avbildning av et faseobjekt når en bruker et fasekontrast lysmikroskop. Angi hvilke komponenter og plassering av disse i lysgangen i lysmikroskopet som trengs for fasekontrast lysmikroskopi.
- c) Gi en kortfattet beskrivelse av fluorescens og hvordan dette utnyttes ved fluorescensmikroskopi. Lag en skisse som viser innbyrdes plassering av de optiske komponentene ved epiilluminering fluorescensmikroskopi. Angi egenskapene til filteret/filterne i forhold til fluorescens-egenskapene. Gjør rede for de underliggende prinsippene i multifoton lysmikroskopi. Hva er resonansenergioverføring og på hvilken måte kan dette utnyttes ved studier av biologiske prøver?

OPPGAVE 2 (Vekt 2)

- a) Beskriv generelt oppbyggingen og virkemåten til et "atomic force" mikroskop (AFM). Ved "non"-kontakt mode kan en bruke ligning (1):

$$m \frac{d^2 z}{dt^2} + \gamma \frac{dz}{dt} + kz = F_0 \sin \omega t + F_{\text{int}}(z) \quad (1)$$

til å beskrive egenskapene til fjæren med spissen ("cantilever") som brukes ved avbildningen. Anta at vi starter med observasjon av tørkede prøver og eksperimentene gjennomføres i luft. Gjør rede for de ulike leddene i ligning (1) og beskriv hva som skjer, ved bruk av denne ligningen, når spissen skal føres ned mot prøven for å komme i posisjon for avbildning. Prøven og AFM spissen blir deretter neddykket i væske. Gjør rede for hvordan parameterne i likn. 1 endrer seg, og hvordan en kan utvikle teknologien for å kompensere for uønskede effekter i dette tilfellet.

- b) Gjør kort rede for underliggende prinsipper for dynamisk kraftspektroskopi, herunder kortfattet beskrivelse av målemetode, analyse, og teoretisk grunnlag. Gi eksempel på hvilke(n) type(r) informasjon knyttet til biologiske makromolekyler en kan bestemme ved hjelp av dynamisk kraftspektroskopi.

OPPGAVE 3 (Vekt 2)

- 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 elektronmikroskopi? Beskriv egenskapene til et elektronoptisk faseobjekt, og hvordan en kan dra nytte av denne beskrivelsen til å beregne effekten på elektronstrålen når den passerer prøven.
- b) Gjør kort rede for hvorfor det er nødvendig å preparere biologiske prøver for elektronmikroskopi. Gi en kortfattet beskrivelse av de ulike trinnene i de to prepareringsteknikkene: (i) innstøping; snitting og farging og (ii) frysefiksering; frakturering, og tungmetallpådamning. Hvilken prepareringsteknikk er godt egnet for røntgenmikroanalyse av biologiske prøver?

Studentnr
Fakultet.....
Side.....

OPPGAVE 4 (Vekt 1).

I denne oppgaven er oppgitt 4 mulige svar, hvorav ett er riktig. Sett kryss ved siden av det riktige svaret og bruk dette oppgavearket som en del av besvarelsen. Alternativt angis svaret ved å skrive rett valgmulighet i besvarelsen.

- a) Modulasjonskontrast lysmikroskopi realiseres ved å sette inn følgende type optiske element(er) i lysgangen til et lysmikroskop:
1. filterpakke
 2. elektronoptisk modulator og ”pinnehull” (pinhole)
 3. wollaston prismer og polariserende filter
 4. aperturblender med rektangulært hull og modulasjonsplate med sektorer som demper lys
- b) Transferfunksjonen til et optisk mikroskop beskriver:
1. totale lysmengde i bildet i forhold til objektet
 2. avbildningssystemets billedannende egenskaper i det reelle rom
 3. den fouriertransformerte av avbildningssystemets impulsresponsfunksjon
 4. dybdeskarphet ved avbildningen
- c) Kvanteutbytte til en gitt emisjonsprosess stimulert ved absorpsjon av fotoner angir:
1. hvor mange tilnærmet samtidige eksitasjoner som er nødvendig for å få til emisjonen
 2. sansynlighet for at et absorbert foton resulterer i den angitt emisjonsprosessen
 3. andel av energi til absorberte fotoner som ikke er tapt i vibrasjonsrelaksasjon
 4. sansynlighet for en kaskadereaksjon som spaltes molekylet
- d) FRAP er forkortelse som brukes om:
1. Fluorescence recovery after photobleaching
 2. Fluorescence resonance after phosphorence
 3. Fluorescence rotation after polarization
 4. Fluorescence recovery after polarization
- e) Prinsippet om total indre refleksjon anvendes i lysmikroskopi for å:
1. avgrense retningen til innfallende lys mot et objekt slik at en kan observere etter mørkefeltprinsippet
 2. selektivt stimulere til fluorescense til fluorescerende molekyl som ligger svært nær en grenseflate
 3. avgrense retningen til lys som har blitt reflektert fra en prøve for dermed oppnå bedre kontrast
 4. samle alt lyset fra lyskilden ved å bruke et hulspeil bak lyskilden for deretter sende det inn i mikroskopet

Studentnr
 Fakultet.....
 Side.....

- f) Polymer "reptation" (åling) observert blant annet ved sekvensiell avbildning av F-aktin in vitro ved hjelp av fluorescensmikroskopi, er karakterisert ved
1. Aktiv transport drevet ved forbruk av ATP som katalyser en polymerisasjons-depolymerisasjonssyklus i de to endene til enkelt F-aktin
 2. Bevegelse til enkeltfiber av F-aktin begrenset av nærvær av de andre F-aktin fiberne
 3. Liten bevegelseshastighet langs lengderetningen til det enkelte F-aktin i forhold til på tvers
 4. Økt bevegelsesfrihet til enkeltfiber av F-aktin med økende konsentrasjon av F-aktin.
- g) En dielektrisk kolloidal kule med brytningsindeks mindre enn løsningsmiddel påvirkes av en fokusert laserstråle til å:
1. Bli fanget med sentrum av kule i intensitetsmaksimum
 2. Bli fokusert sentralt i strålegangen, men ha frihet til å forflytte seg langs stråleaksen til laserlyset
 3. Bli frastøtt av laserstrålen
 4. Fordamper på grunn av for stor oppvarming
- h) For van der Waals interaksjonen mellom to atomer gjelder:
1. tiltrekkende potensial med avstandsavhengig proporsjonalt med $1/r^6$ hvor r er avstand
 2. kan betraktes til å være sammensatt av to additive bidrag
 3. har en tiltrekkende og frastøtende komponent som gir et total potensial med både ett $1/r^{12}$ og ett $1/r^6$ ledd
 4. gjelder kun for netto ladede atomer hvor utledningen tar utgangspunkt i den elektrostatiske betrakningen.
- i) FIEL er en forkortelse knyttet til:
1. Analysemetode for bestemmelse av relativ elastiske egenskaper til en prøve bestemt ved hjelp av AFM, ved integrasjon av kraft-deformasjonsprofilen til lik deformasjon
 2. Angivelse av maksimalt dynamisk kraftområde tilgjengelig ved kontrollektronikk til AFM (Force Implemented to Electronic Limit)
 3. Høyeste kraftpåvirkning fra AFM spiss på prøve innen tilgjengelig vibrasjonsamplitude, Force Induced Excitation Limit
 4. AFM analyse for bestemmelse av relativ ladningstetthet i forhold til topografiske variasjoner av steriske vekselvirkninger.
- j) Busch teoremet beskriver
1. Sammenheng mellom avbøyning av en elektronbane i et magnetfelt i forhold til elektronets hastighet og styrken på magnetfeltet
 2. Sammenheng mellom dreiemoment til et elektron som beveger seg i en bane langs en elektronoptisk akse og magnetisk fluks
 3. Effekt av elektrisk felt på bevegelsen et elektron innen en elektromagnetisk linse
 4. Effekt av magnetfeltstyrken i en magnetisk linse for fokallengden til denne.

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

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

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

$$\vec{E} = \vec{E}_0 \exp\left\{-j(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)\right\}$$

$$I = \left\langle \vec{E} \times \sqrt{\frac{\epsilon}{\mu}} \left(\vec{e}_k \times \vec{E} \right) \right\rangle = \sqrt{\frac{\epsilon}{\mu}} \langle E^2 \rangle = \epsilon c \langle E^2 \rangle$$

$$hf \text{ (eV)} = \frac{1240}{\lambda \text{ (nm)}} \qquad p = hv/c = h/\lambda$$

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

$$\frac{Kc}{R_0} = \frac{1}{M} (1 + 2Bc + \dots) \frac{1}{P(\theta)} = \frac{1}{M} (1 + 2Bc) \left(1 + \frac{16\pi^2}{3\lambda_1^2} \sin^2(\theta/2) R_G^2 \right)$$

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

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

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

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

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

$$\frac{d\rho}{dt} = -\nabla \cdot \vec{J} = -D\nabla \cdot \left\{ (F - \nabla E) \frac{\rho}{k_B T} - \nabla \rho \right\}$$

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

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

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

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

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

$$k_{\text{off}} \approx \frac{D}{l_c l_{ts}} \exp \left[-\frac{E_b(F)}{k_B T} \right]$$

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

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

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

$$l_i \approx l_{ts} / l_{ts}^0 = \sqrt{\kappa_{ts}^0 / \kappa_{ts}}$$

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

$$\tau_D = l_c l_{ts} \frac{\gamma}{k_b T}$$

$$l_c = \sqrt{2\pi k_B T / \kappa_c}$$

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

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

$$F_\beta = k_B T / x_\beta$$

$$P = \vec{d} \sigma + \epsilon_0 \chi E$$

$$K_y = \frac{2\sqrt{2} d_{13} L^2}{\pi D h}$$

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

$$E_b(F) = E_b - F x_\beta$$

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

$$r_f = k v_t$$

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

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

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

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

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

$$S(t) = \exp\left[-\int_0^t k_{\text{off}}(t') dt'\right]$$

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

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

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

$$F^* = F_\beta \ln(r_f / r_f^0)$$

$$I(z) = I(0) e^{-z/d}$$

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

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

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

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

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