

NORGES TEKNISK-NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET
INSTITUTT FOR FYSIKK

Faglig kontakt under eksamen:

Navn: Catharina Davies

Tlf: 735 93688

EKSAMEN I EMNE
SIF4071 BIOFYSISKE MIKROTEKNIKKER
DIKXXX BIOFYSISKE MIKROTEKNIKKER
Onsdag 27. november 2002
Tid: kl. 0900 – 1400.

Tillatte hjelpemidler: C- Typegodkjent kalkulator med tomt minne tillatt.
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 51, 2002

OPPGAVE 1.

- a) Köhlers belyningsprinsipp er fundamentalt for innstilling av et lysmikroskop. Lag en skisse som viser lysgangen gjennom et lysmikroskop som er innstilt i samsvar med Köhlers belyningsprinsipp. Angi navn på de ulike komponentene og deres innbyrdes plassering. Formuler Köhlers belyningsprinsipp ved ord og gi begrunnelsen for de ulike trinn i prosedyren. Hvor vil du plassere den ringformede blenden og modulatoren som brukes ved fasekontrastmikroskopi ?
- b) Gi en kortfattet beskrivelse av fluorescens og hvordan dette utnyttes ved fluorescensmikroskopi. Lag en skisse som viser innbyrdes plassering av de optiske komponentene ved epi-illuminering fluorescens-mikroskopi. Angi egenskapene til filteret/filterne i forhold til fluorescens-egenskapene. Gjør rede for de underliggende prinsippene i konfokal lysmikroskopi. Hva menes med multifoton mikroskopi og gi en kortfattet sammenlikningen med konfokal mikroskopi. Hva er resonansenergioverføring og på hvilken måte kan dette utnyttes ved studier av biologiske prøver?
- c) Beskriv refleksjonsinterferenskontrastmikroskopi og angi hva slags informasjon som oppnås. Sammenlign denne teknikken med total indre refleksjons-(fluorescens) mikroskopi.

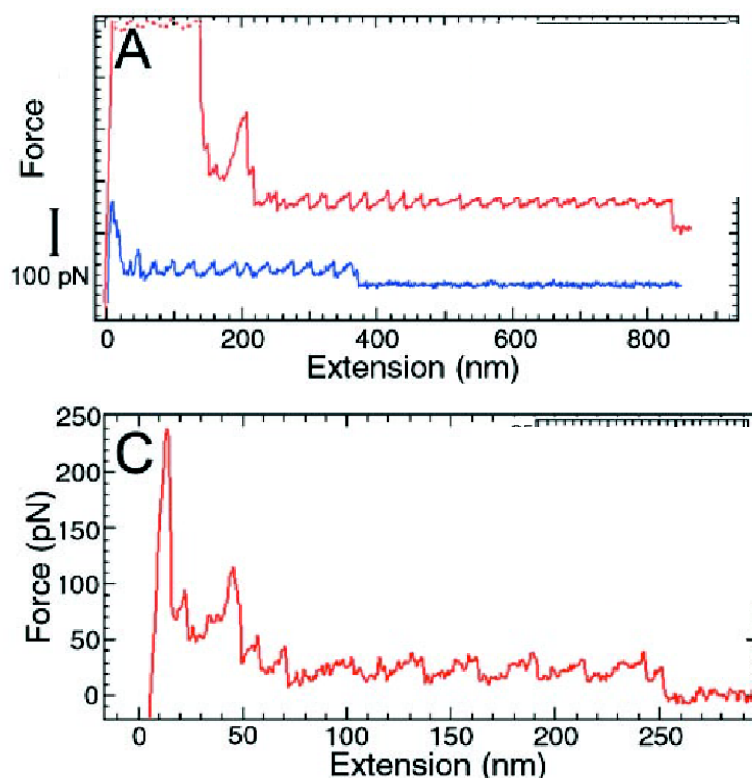
OPPGAVE 2.

- a) Beskriv generelt oppbyggingen og virkemåten til et "atomic force" mikroskop (AFM). Ved "non"-kontakt mode brukes ligningen:

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

til å beskrive svingeegenskapene til fjæren med spissen ("cantilever") som brukes ved avbildningen. Gjør rede for de ulike leddene i ligningen og beskriv hva som skjer i lys av denne ligningen når spissen skal føres ned mot prøven for å komme i posisjon for avbildning. Gjør rede for hvordan denne ligningen gir basis for kvantitativ bestemmelse av kreftene mellom spiss og prøve.

- b) Gjør rede for oppløsning i et AFM i forhold til lysmikroskop og transmisjonselektronmikroskop. Hvordan kan vi forbedre oppløsningen ved avbildningen i AFM ?
- c) Figur 1 viser eksperimentelt bestemte kraft-strekke data for lysozyme polymer produsert ved rekombinant DNA teknologi (polymerisert form at de normalt forekommende). Dataene ble bestemt ved bruk at et AFM. Gjør rede for hvilken informasjon en kan oppnå ved analyse av disse data og ved bruk av denne type karakterisering generelt. Hvordan ville du forvente at kraft-strekkeforhold ville se ut dersom en optisk pinsett ble brukt for bestemmelse av kraft-strekkeprofilen (samme betingelser som Fig. 1A) ?



Figur 1. Eksperimentelle data for lysozymepolymer i fysiologiske betingelser (A) og i guanidine hydrochloride (C). Guanidine hydrochloride: denaturerer proteiner.

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 elektronmikroskopi ?
- b) Lag en prinsippskisse som viser oppbyggingen av et kombinasjonselektronmikroskop. Skisser oppbyggingen av en magnetisk linse, og gi en forklaring på hvorfor en slik linse alltid er en samlelinse.
- c) Figur 2 viser strålegang for billeddannelse ved hjelp av elektromagnetiske linser. Bølgefunksjonen i fokalplanet til den elektromagnetiske linsen ved avbildning av et objekt kan skrives:

$$\psi_C(\vec{R}) = \int_{obj} \psi_{obj}(\vec{r}) \cdot \exp\left\{j\Delta + j\frac{2\pi}{\lambda}\Delta f\right\} \exp\left\{j\frac{\pi}{\lambda}(\alpha^2\Delta f - C_s\alpha^4/4)\right\} \cdot \exp\left\{-j\frac{2\pi}{\lambda f}\vec{R} \cdot \vec{r}\right\} d^2r$$

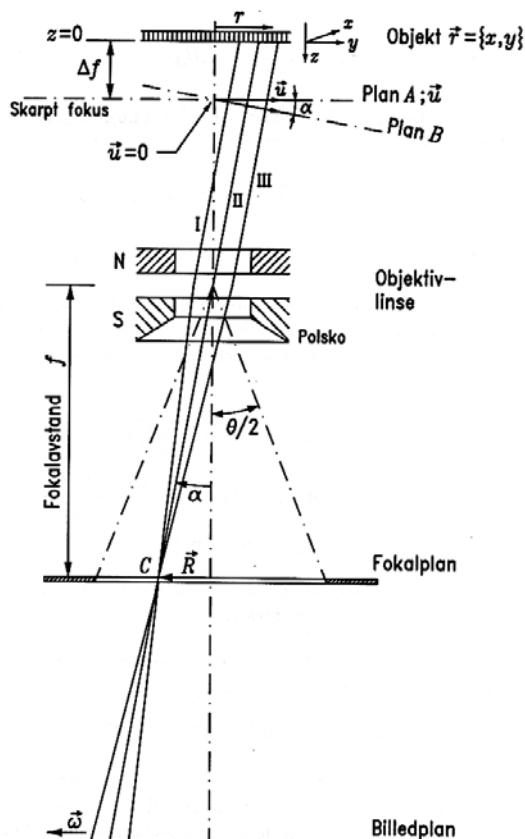
Ligningen over kan omformes til:

$$\psi_C(\vec{R}/\lambda f) = A_0 C_2 \exp\{j\chi\} \cdot \left[\delta\left(\vec{R}/\lambda f\right) + \mathcal{F}\left\{\psi_{obj}^r(\vec{r})\right\} + j\mathcal{F}\left\{\psi_{obj}^i(\vec{r})\right\} \right]$$

Ut fra denne kan en finne intensitetsfordelingen i billedplanet:

$$|\psi_B(\vec{\omega})|^2 \propto C_2 \cdot \left[1 + 2\mathcal{F}^{-1}\left\{ P(\alpha) \left(\mathcal{F}\left\{\psi_{obj}^r(\vec{r})\right\} \cos\chi(\alpha) - \mathcal{F}\left\{\psi_{obj}^i(\vec{r})\right\} \sin\chi(\alpha) \right) \right\} \right]$$

Beskriv de ulike leddene i denne siste ligningen. Beskriv fremgangsmåten Unwin og Henderson brukte for rekonstruksjon av høyopløselig tredimensional struktur til bakteriorhodopsin.



Figur 2

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

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

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

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

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

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

$$k_R = \frac{1}{\tau_M} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6$$

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

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

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

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

$$\Omega = \Omega(x, y) = |\Omega(x, y)| e^{j\varphi(x, y)}$$

$$\phi(\vec{r}) \approx C_1 \frac{1}{r} e^{-jkr}$$

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

$$R = \frac{C(u, v, t_2)}{C(u, v, t_1)} = e^{-4\pi^2 D(u^2 + v^2)(t_2 - t_1)}$$

$$i_w(j, k) = \frac{i(j, k)}{4} \left[1 - \cos\left(2\pi \frac{j-1}{m-1}\right) \right] \left[1 - \cos\left(2\pi \frac{k-1}{n-1}\right) \right]$$

$$P(n) = \frac{m^n}{n!} e^{-m}$$

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

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

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

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

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

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

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

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

$$A_f(\omega) = \frac{a_d Q_0 \omega_0^2}{\sqrt{Q_0^2 (\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \omega_0^2 \omega^2}}$$

$$\Phi_f(\omega) = \arctan \left[\frac{\omega_0 \omega}{Q_0 (\omega_0^2 - \omega^2)} \right]$$

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

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

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

$$\frac{1}{E^*} = \frac{1 - \nu_1^2}{E_1} + \frac{1 - \nu_2^2}{E_2}$$

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

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

$$\begin{aligned}
|k_{off}|_{F=F^*} &= r_f \left[\frac{\partial \ln k_{off}}{\partial f} \right]_{F=F^*} \\
F^* &= F_\beta \ln(r_f / r_f^0) \\
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)_{Particle \ trajectory} &= - \frac{q}{2\pi} \left(\frac{d\Phi_B}{dt} \right)_{Particle \ trajectory} \\
\frac{\partial^2 r}{\partial z^2} + \frac{\partial V(0, 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 \\
\Delta \psi_{obj}(\vec{r}, 0) &= A_0 \exp \left(j \int_{z^-}^0 \Delta k(\vec{r}, z) dz \right) \\
\Delta \psi_{obj}(\vec{r}, 0) &= A_0 \exp \left(- j \frac{\pi q}{\lambda E_k} \int_{z^-}^0 \Delta U_{obj}(\vec{r}, z) dz \right) \\
\Delta \psi_{obj}(\vec{r}, 0) &= A_0 \left[1 + \psi_{obj}^r(\vec{r}) + j \psi_{obj}^i(\vec{r}) \right] \\
\psi_C(\vec{R}) &= \int_{obj} \psi_{obj}(\vec{r}) \cdot \exp \left\{ j \left(\Delta \phi_1(\alpha) + \Delta \phi_2(\alpha, \beta, \vec{r}) + \Delta + \Delta_S(\alpha) \right) \right\} d^2 r \\
\psi_C(\vec{R}) &= A_0 C_2 \exp \{ j \chi \} \cdot \left[\delta \left(\vec{R} / \lambda f \right) + \mathcal{F} \left\{ \psi_{obj}^r(\vec{r}) \right\} + j \mathcal{F} \left\{ \psi_{obj}^i(\vec{r}) \right\} \right] \\
|\psi_B(\vec{\omega})|^2 &\propto C_2 \cdot \left[1 + 2 \mathcal{F}^{-1} \left\{ P(\alpha) \left(\mathcal{F} \left\{ \psi_{obj}^r(\vec{r}) \right\} \cos \chi(\alpha) - \mathcal{F} \left\{ \psi_{obj}^i(\vec{r}) \right\} \sin \chi(\alpha) \right) \right\} \right] \\
\chi(\alpha) &= \pi \lambda \Delta f \left(\frac{\alpha}{\lambda} \right)^2 - \frac{\pi}{2} \lambda^3 C_S \left(\frac{\alpha}{\lambda} \right)^4 \cong \frac{\pi \lambda \Delta f}{d^2} - \frac{\pi \lambda^3 C_S}{2 d^4} \\
|\psi_C(\vec{R} / \lambda f)| &\propto \left| \mathcal{F} \left\{ \psi_{obj}^i(\vec{r}) \right\} \right|^2 \equiv |\mathcal{F}_1|_{\Delta f=0, low \ dose}^2 \\
|\psi_B(\vec{\omega})| &\propto \left| 1 + \mathcal{F}^{-1} \left\{ P(\alpha) \mathcal{F} \left\{ \psi_{obj}^i(\vec{r}) \right\} \sin \chi(\alpha)_{\Delta f=580 \text{ nm}} \right\} \right|^2 \\
&\cong \left| 1 + 2 \mathcal{F}^{-1} \left\{ P(\alpha) \mathcal{F} \left\{ \psi_{obj}^i(\vec{r}) \right\} \sin \chi(\alpha)_{\Delta f=580 \text{ nm}} \right\} \right| \\
\psi_{obj}^i(\vec{r}) &= \mathcal{F}^{-1} \left\{ \sqrt{|\mathcal{F}_1|_{low \ dose}^2} \exp(j \text{Arg}(\mathcal{F}_3)) + \left[\begin{array}{l} 0 \text{ when } \sin \chi_{\Delta f=580 \text{ nm } low \ dose} > 0 \\ j\pi \text{ otherwise} \end{array} \right] \right\}
\end{aligned}$$