

LIQUID SCANNER

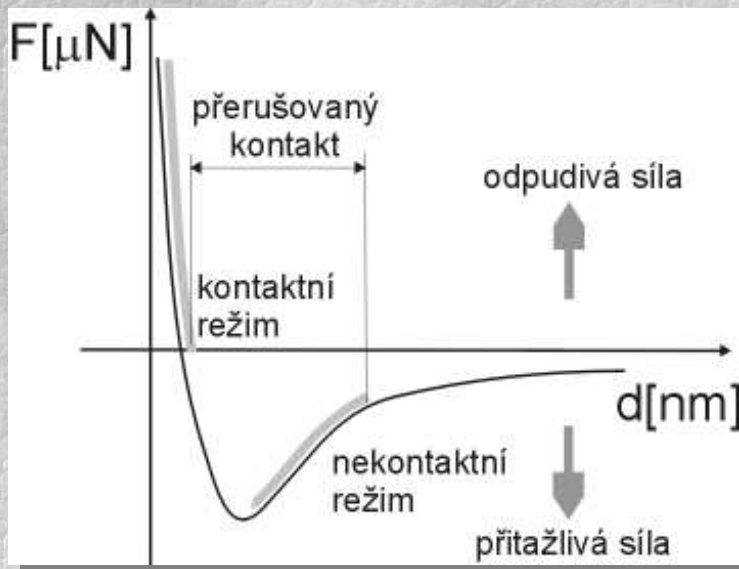
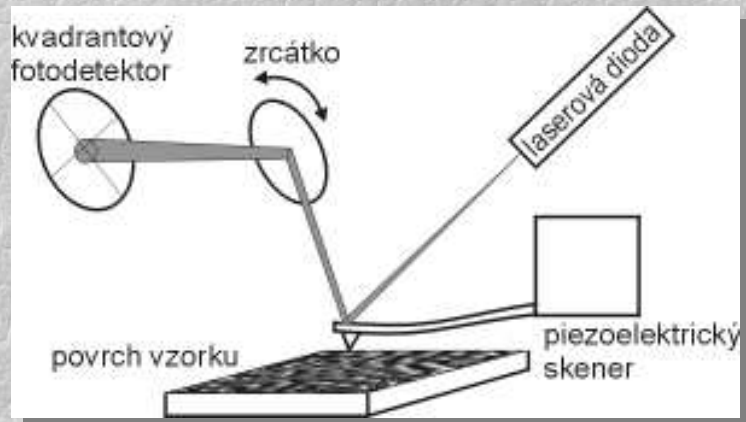
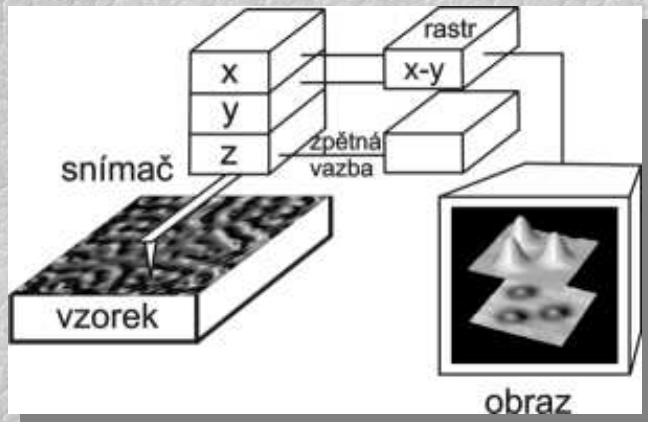
biologické aplikace AFM Explore

**Roman Kubínek¹, Milan Vůjtek¹, Zdeňka Zapletalová²,
Renata Holubová¹, Hana Kolářová³**

¹ Katedra experimentální fyziky přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, tř. Svobody 26, 77146 Olomouc, kubinek@sloup.upol.cz

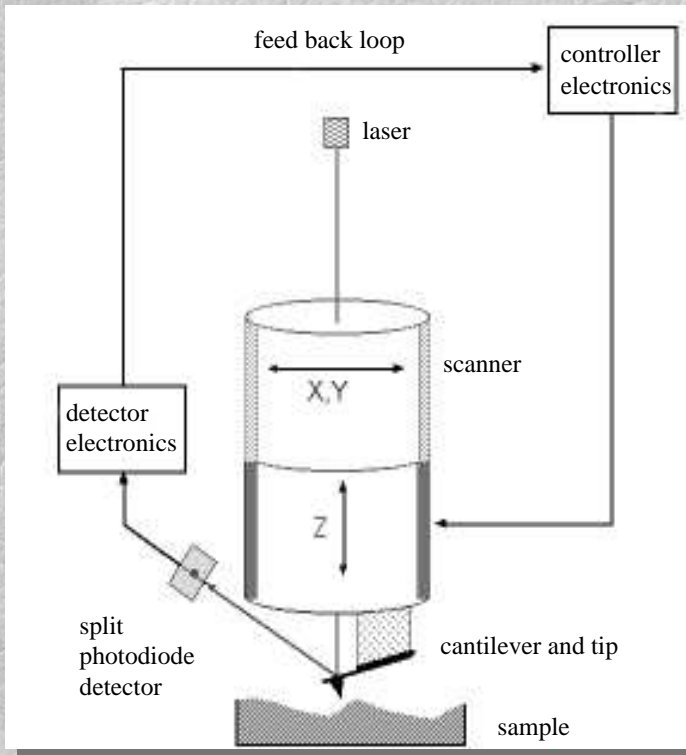
² I. Stomatologická klinika FN Olomouc, Palackého 12, Olomouc

³ Ústav lékařské biofyziky Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci



Princip detekce

- kontaktní režim
- bezkontaktní režim
- pokleповý (tapping) mód

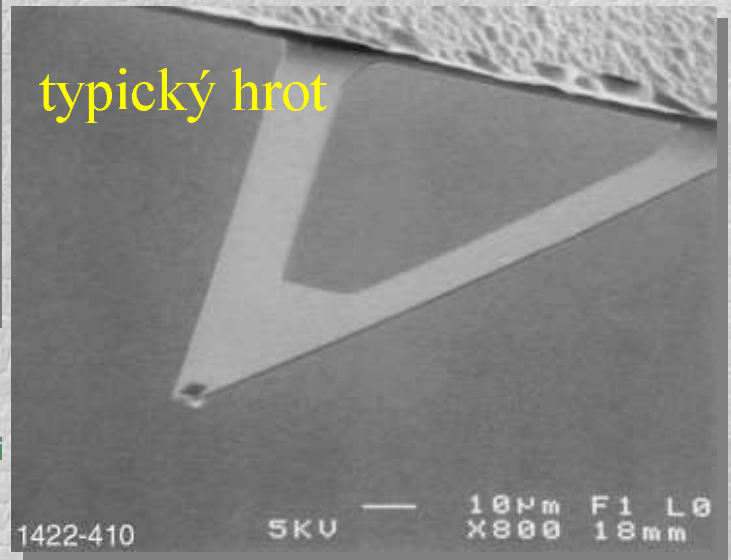


• kontaktní režim

$F \approx 10^{-7} \text{ N}$ – režim konstantní síly

$d \approx 1 \text{ nm}$

zejména vhodné pro tuhé vzorky



**Schéma detekce
v kontaktním režimu**

Schéma detekce v bezkontaktním a pokleповém režimu

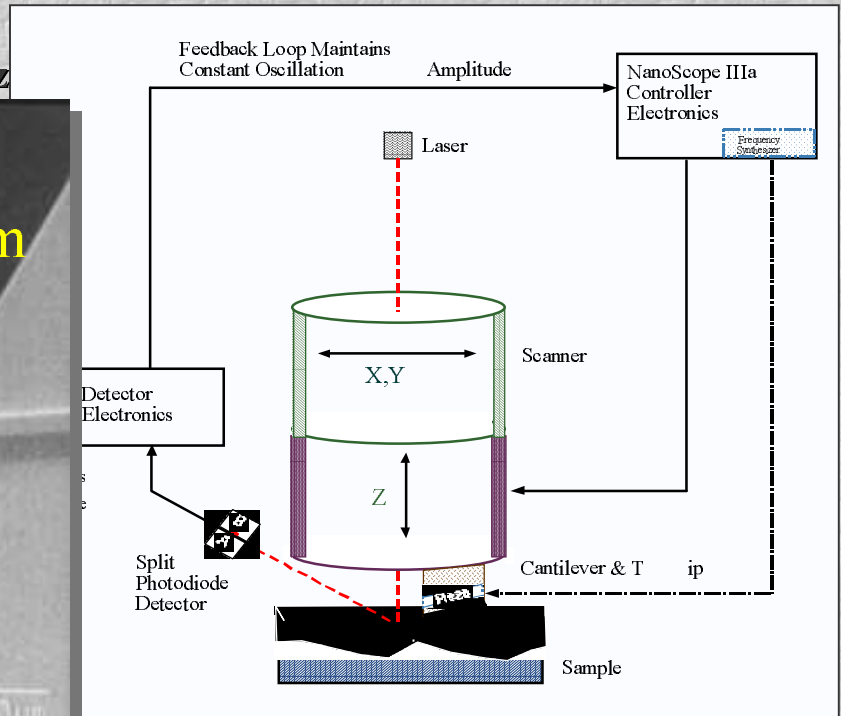
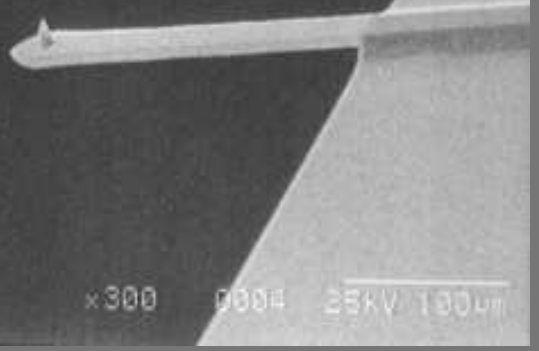
- **nekontaktní režim**

- **pokleповý režim**

$F_w \approx 10^{-12}$ N, $d \approx 100$ nm,
raménko kmitá s $f_r \approx 200 - 400$ kHz

– měkké, pružné (biologické) vzorky

typický hrot
s poloměrem 5 až 10 nm



Klasifikace aplikací liquid scanneru v biologii

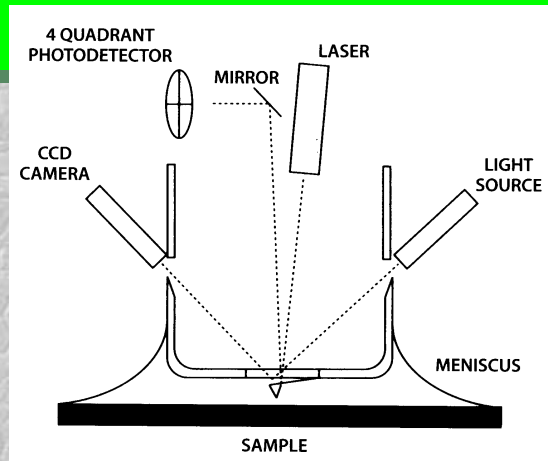
•Zobrazovací techniky

- Statické vzorky (molekuly, buňky, tkáně,...)
- Živé buňky, molekulární pohyb

•Nezobrazovací technik

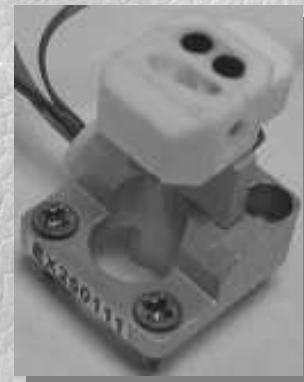
- Měření sil: spektroskopie F-d
- Detekce mikromechanických vlastností

AFM Explorer Skener pro kapaln  vzorky + invertn  SM Olympus



Trubi kov  skener

2 μm /0,8 μm

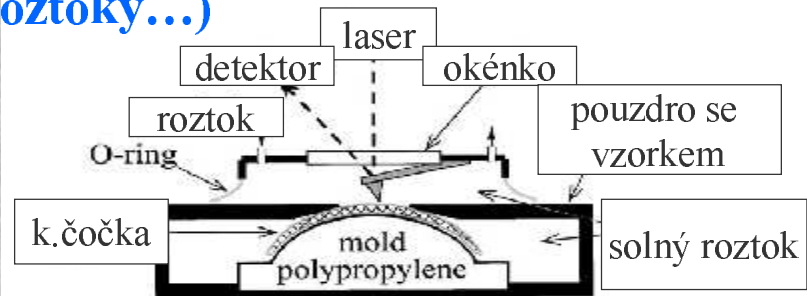


Kr zov  skener

100 μm /10 μm

Přednosti mikroskopie atomárních sil ve srovnání s elektronovou mikroskopií

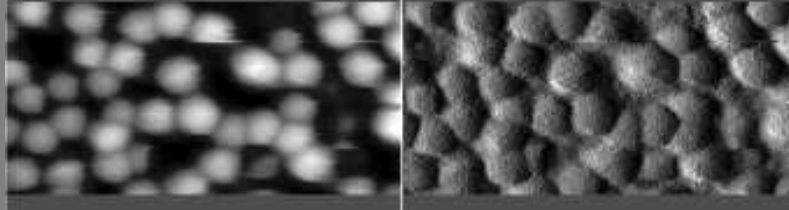
- možnost pracovat v kapalném prostředí
- zobrazení nativních preparátů (bez fixace, odvodnění,...)
- dává vysoké rozlišení v 3D prostoru
- relativně nedestruktivní analýza
- přináší informace o mechanických vlastnostech povrchu
- možnost měnit fyzikální podmínky při analýze (teplota, tlak a druh plynu, roztoky...)



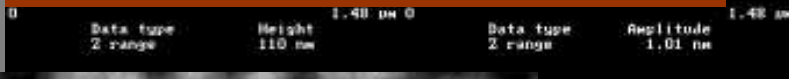
Hranice možností AFM aplikací v biologii

- **imobilizace vzorku (DNA, proteiny, lipidy...)**
 - elektrostatické síly, iontová vazba (slída, pufrý...)
 - kovalentní vazba proteinů (pozlacení povrchu)
 - biologická lepidla
- **obecné problémy vztahující se i na jiné aplikace**
 - nedostatečný Z rozsah pro vyšší vzorky
 - kontaminace hrotu
 - nemožnost dostatečně popsat interakci hrotu s měkkým vzorkem (stlačení, zkroucení apod...)
 - nežádoucí děje v roztocích (víry, mikrobubliny vzduchu,...)

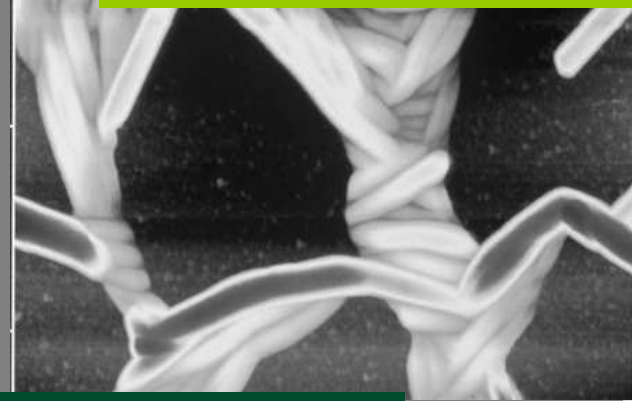
Zobrazení struktur



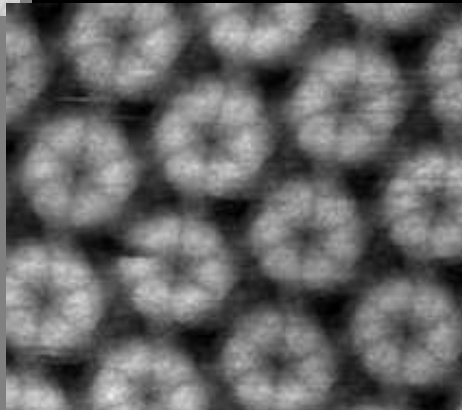
Virus chřipky, sken 1,5 μm



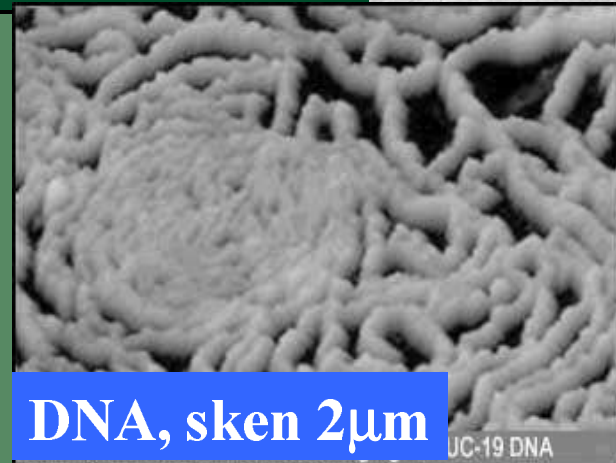
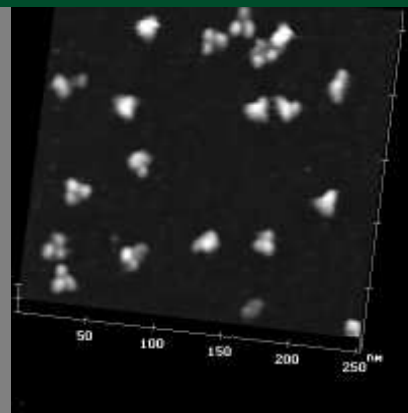
Lipidy, sken 1,5 μm



Proteiny IgG, sken 250 nm



Cytoplasmatická membrána

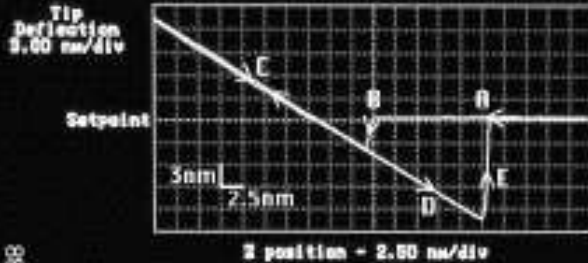


DNA, sken 2 μm

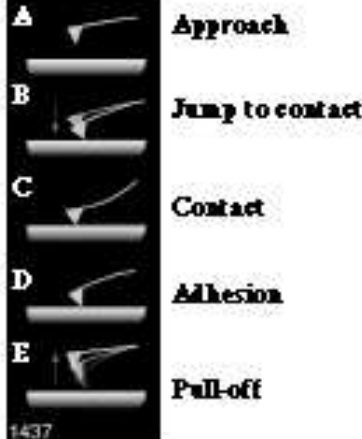
UC-19 DNA

Nezobrazující techniky

Force Calibration Plot

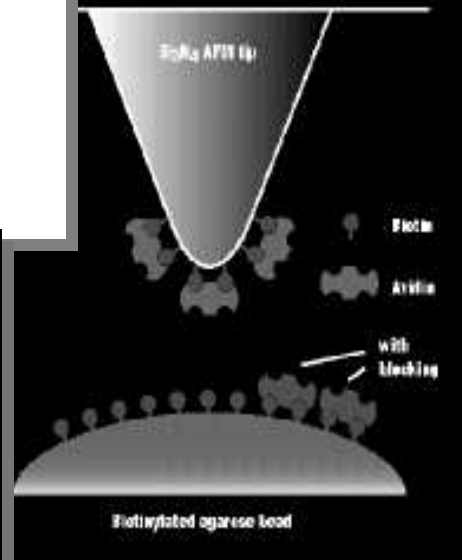


1438

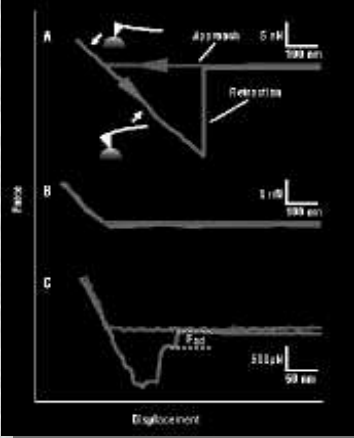


1437

Adhesion Forces Between Individual Ligand-Receptor Pairs



Force Curves For Receptor-Ligand Adhesion

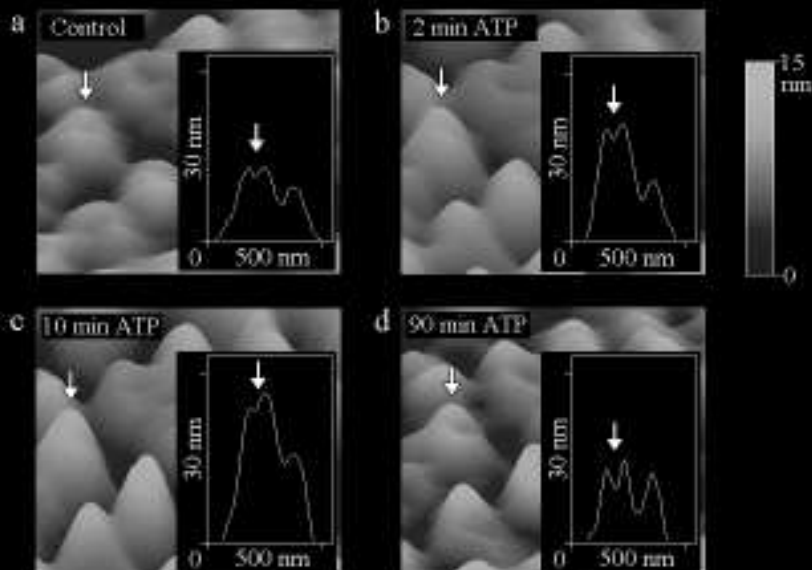
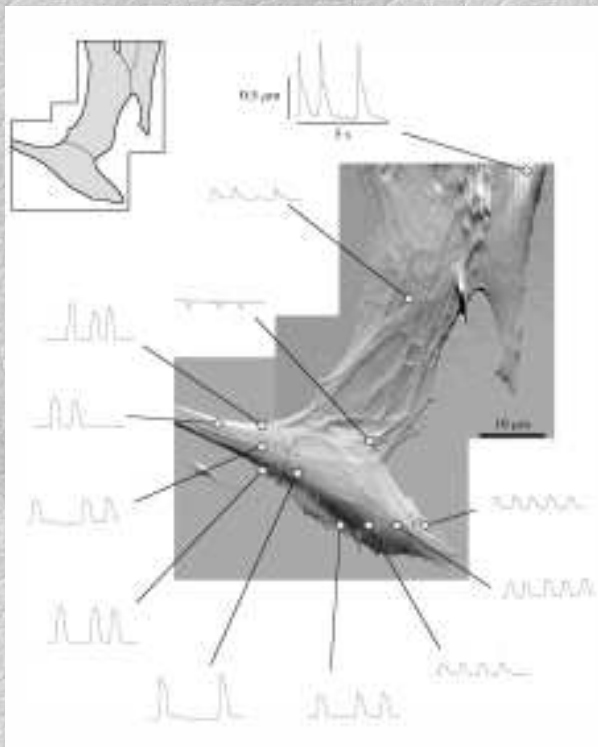


Měření sil (F-d spektroskopie)
Inter a Intra-molekulové síly

Mechanické vlastnosti vzorků

Molekulární a buněčný pohyb - pulsace kardiomyocytů

Konformační změny - kanály buněčné membrán

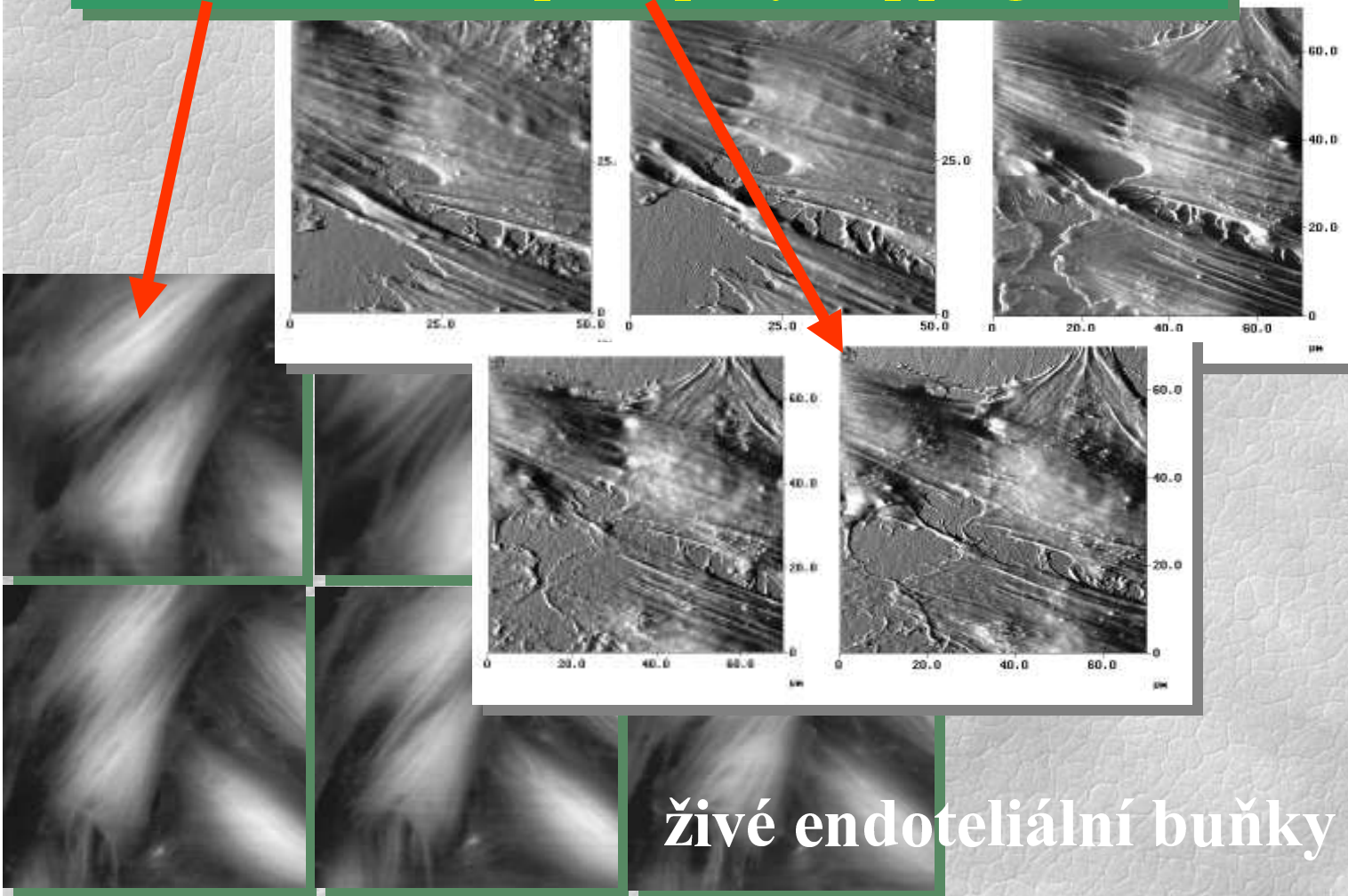


Cantilever jako biosenzor?

- * detektor kontaminace ve vodě a ovzduší
- * detektor specifických biomolekul
- * detekce biochemických metabolitů
- * „umělý nos“ – studium chutí a vůní



Kontaktní nebo pokleповý (tapping) mód?



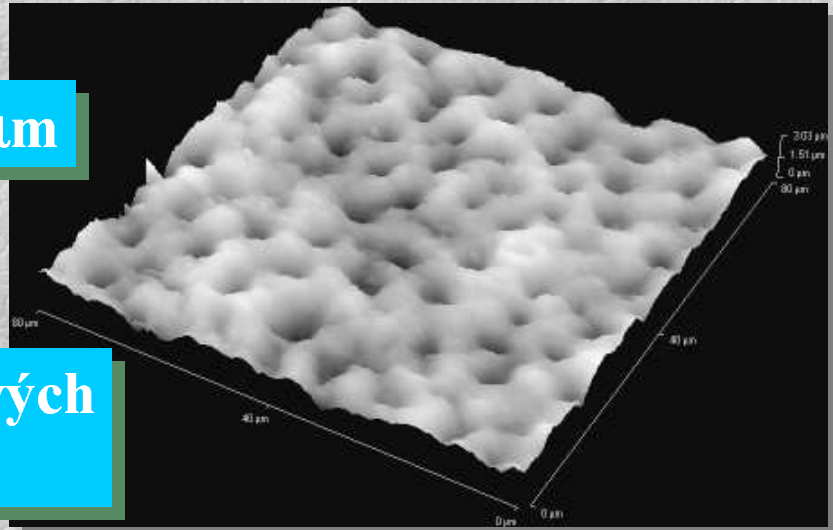
**Biologické aplikace (liquid scanner)
v laboratoři AFM Katedry experimentální fyziky
PřF Univerzity Palackého v Olomouci**

- Redukce dentinové hypersensitivity po expozici laserem
- Analýza povrchu měkkých kontaktních čoček

Redukce dentinové hypersensitivit po expozici laserem

dentin, sken 80 μm

Průměr ústí dentinových tubulů 3 – 4 μm



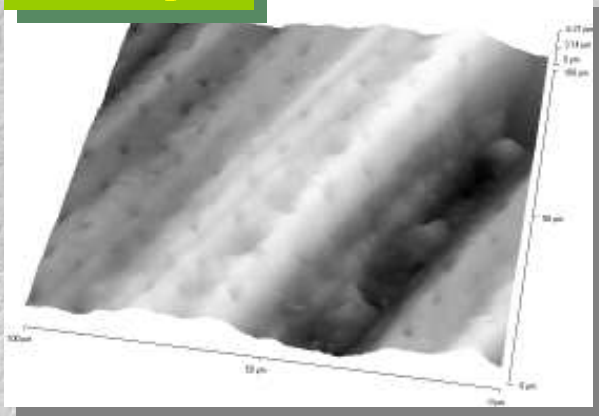
Částečná okluze vstupu dentinových tubulů sníží hypersensitivitu zubu a permeabilitu tubulů

Perspektiva: terapie dentinové hypersensitivit modifikací dentinového povrchu laserem

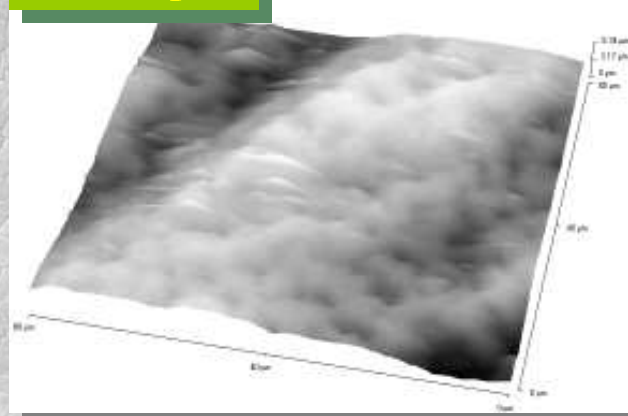
Vystavení dentinu účinku Nd:YAG laseru

- 1985 Masumoto první použití Nd:YAG v léčbě dentinové hypersensitivity
použití rovněž při redukci bakteriálních populací (baktericidní účinky)
- Nd:YAG pulsní laser – výkon 1 až 1000 W, $\lambda = 1,064 \mu\text{m}$, $f = 1$ až 1000 Hz
používaný výkon pro experiment 100 - 200 mJ/puls
- Požadavky na fototermální a termomechanické interakce:
 - Zabránění hluboké penetraci absorpčním činidlem (černý inkoust)
 - Krátkodobé překročení pulpní teploty o 5°C
 - Dynamický puls kratší než práh bolesti
 - Zajištění adheze výplňových materiálů

150 mJ/puls



200 mJ/puls



Nástin vývoje kontaktních čoček

Od historie k současnosti:

1800 – skleněné čočky

1933 – polymethylmetakrylát
(PMMA)–výroba soustružením

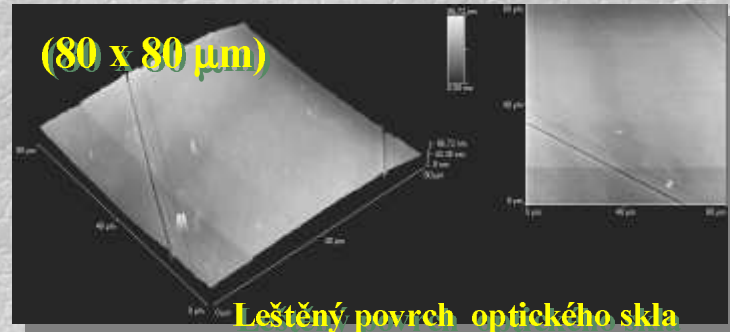
1960 – ak. Wichterle – patent na
hydroxyethylmetakrylát (HEMA).

Hydrogel – výroba litím (38% vody)

1978 – RGP čočky (organosilikáty se silikonovými akryláty–TRIS)
– jsou určeny pro dlouhodobé nošení.

1978 – polysiloxanové hydrogely (PDMS) v kombinaci
s hydrofilickými monomery (NVP, p-HEMA)

**měkké kontaktní čočky s výbornou propustností kyslíku
(obsah vody > 50%) určené pro dlouhodobé nošení**



Analýza povrchu měkkých kontaktních čoček

Výzkumy zaměřené na:

- permeabilitu vody a iontů v souvislosti s pohybem kontaktní čočky v oku
- chování KČ v solných roztocích (tření, adheze)
- studium morfologie siloxanových hydrogelů

Současné materiály vykazují:

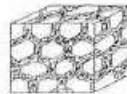
isotropic



IPN



Duplex



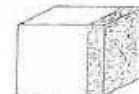
Reticulum

izotropní struktury
(neuspořádaná forma)



Dispersion

anisotropic



Coating



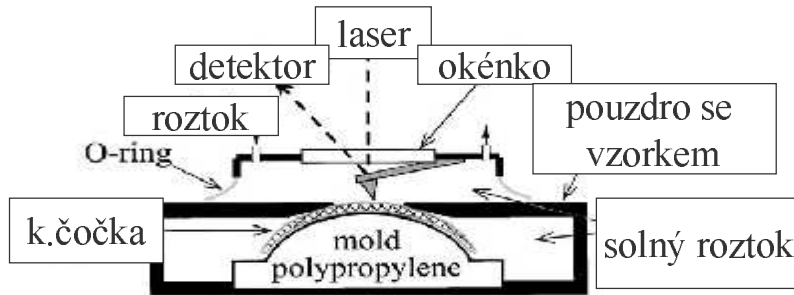
Lamellae



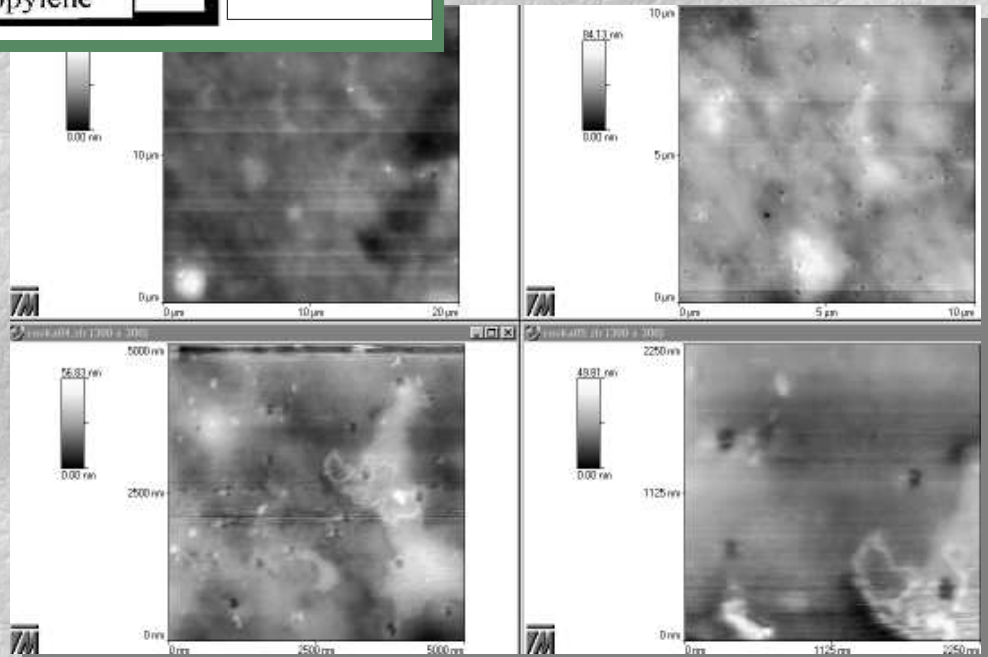
Fibers, Cylinders

anizotropní struktury
(uspořádané v jednom směru)

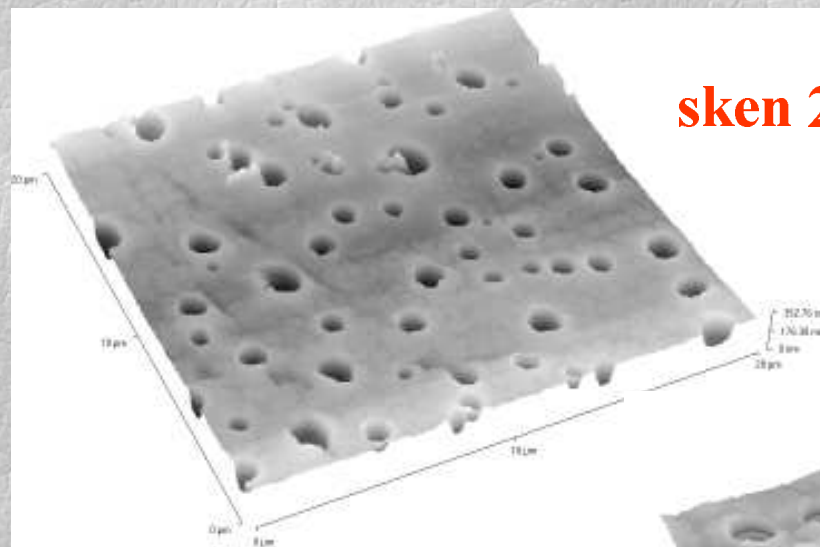
Analýza povrchu měkkých kontaktních čoček–AFM



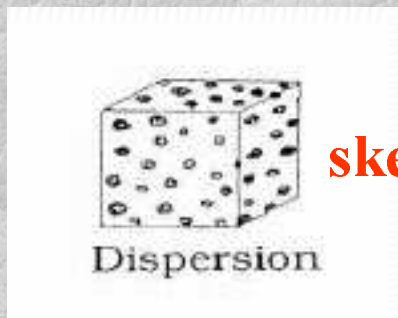
**vznik artefaktů
v obraze v důsledku
vysychání gelu**



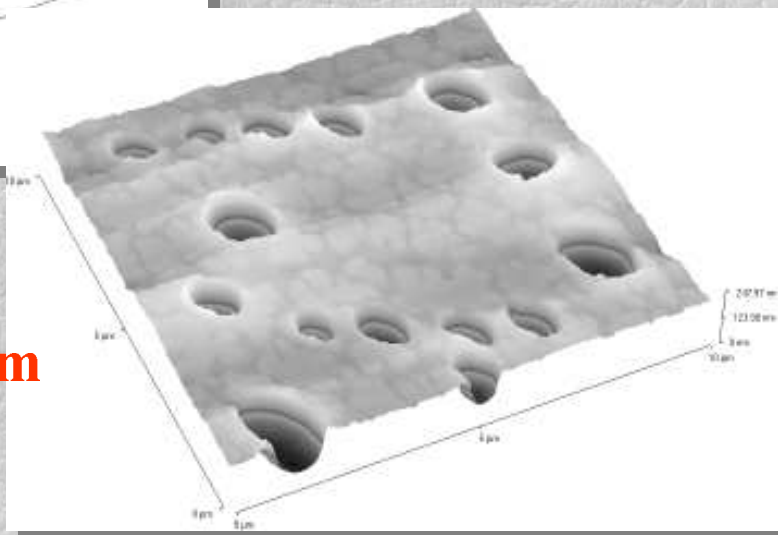
Analýza povrchu měkkých kontaktních čoček–AFM



skan 20 μm



skan 10 μm



Závěr

Pozvánka k návštěvě: <http://atmilab.upol.cz>

