

Kai – Uwe Knobloch
Dr. sc.hum.

Optimierung Kalibrierung und Anwendung eines Evanescent-Field-Transducers für hochauflösende Kraftmessungen an Myofibrillenpräparaten

Geboren am: 08.02.1966
Reifeprüfung am: 15.05.1987
Studiengang der Fachrichtung Physik vom SS 1989 bis SS 1996
Vordiplom am: 08.07.1991 an der Universität Heidelberg
Diplom am: 29.04.1996 an der Universität Heidelberg
Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. rer.nat. R.H.A. Fink

Es wurde ein Transducer entwickelt und an Myofibrillen getestet, der eine Auflösung von bis zu 100 pN bei der kleinsten zu detektierenden Abstandsfluktuation von 0,1 nm erreicht. Dabei wurde ein neues Messprinzip zur Auslenkungsbestimmung des Kraftarms benutzt, das bisher nicht in der Muskelphysiologie zum Einsatz kam. Die frustrierte Totalreflexion lässt sehr hohe Ortsauflösungen von einigen Femtometern (10^{-15} m) bei Verwendung konventioneller Komponenten zu. Der Lichtleiter, der als Feder wirkt, hat bei einem Durchmesser von 55 fm und einer Länge von 3 mm eine Federkonstante von 2,84 N/m. Damit ergibt sich eine theoretische Kraftauflösung im Femtonewton-Bereich. Diese theoretische, hauptsächlich durch das Schrotrauschen der Photodiode begrenzte Auflösung ließe sich z.B. durch einen stärkeren Laser mit einer kürzeren Wellenlänge wesentlich erhöhen. Diese auch bei anderen Messverfahren erreichbare theoretische Auflösung stellt aber bei Experimenten unter physiologischen Bedingungen nicht die tatsächlich erreichbare Schwelle dar. Diese ist vielmehr durch das Rauschen des Lasers, thermisches Rauschen, Erschütterungen, die sowohl über den Boden, als auch über die Luft auf das System einwirken können und thermische Drift gegeben.

Mit dem weiterentwickelten Polierapparat ist es möglich, freie Lichtleiter bis zu einer Federkonstante von ca. 1 N/m und mit einem Schliffwinkel bis etwa 80 Angström zu bearbeiten. Die Oberflächengüte ist bei Verwendung einer Diamantschleiffolie mit einer Korngröße von 100 nm für die Totalreflexion des Lichts des HeNe-Lasers mit 632,8 nm ausreichend.

Es wurde auf piezomechanische Komponenten in diesem Stadium bewusst verzichtet, um die zusätzliche Drift dieser Komponenten zu vermeiden. Die wichtigste Eigenschaft des Mikromanipulators stellt seine Fähigkeit dar, die Position zu halten. Eine Einstellgenauigkeit von etwa 20 nm ist ausreichend, um eine gute Position innerhalb des Transmissionsbereiches zu erzielen. Die differentiellen Mikrometerschrauben können auf 50 nm genau eingestellt werden. In einer Bewegungsrichtung wurde ein getriebeuntersetzter Gleichstrommotor mit Encoder eingesetzt. Damit sind Einzelschrittweiten von 3,6 nm möglich. Für eine gute Reproduzierbarkeit wurde jedoch um mindestens 18 nm verfahren.

Das Signal wurde vor der Analog-Digital-Wandlung gefiltert. Dies bietet gegenüber einer softwareseitigen Filterung den Vorteil, dass sich Rauschanteile oberhalb der Nyquistfrequenz nicht auf das Signal auswirken. Aufgrund der extrem hohen Ortsauflösung des Systems von ca. 0,1 nm sind isometrische Messungen mit allen Präparaten durchführbar, die eine Mindestkraft von 200 pN aufbringen.

Zu Testzwecken wurden physiologische Messungen an Myofibrillenbündeln durchgeführt. Dabei wurde Kalzium durch UV-Blitze freigesetzt und ratiometrisch mit dem Fluoreszenzfarbstoff Fura-2 an einem OSP-System kontrolliert. Die Kalziumausschüttung war jedoch sehr gering, was im Vergleich zur erzielten Auflösung recht große Präparate

erforderlich machte. Es konnte dennoch gezeigt werden, dass sich der Transducer in seiner jetzigen Form hervorragend für isometrische Messungen an Myofibrillenpräparaten eignet.

Eine Weiterentwicklung des Transducers ist geplant. Mit Hilfe feinerer Lichtleiter oder möglicherweise ausgezogener Glasnadeln, die einer totalreflektierenden Fläche gegenübergestellt werden, in die das evanescente Feld eintreten kann und einem noch stabileren Aufbau, soll in Zukunft der Kraftbereich einzelner Querbrücken erschlossen werden. In dieser Weiterentwicklung ist der Einsatz von Piezoelementen, die den Flächenabstand durch eine Rückkopplung konstant halten könnten, ratsam. Mögliche Drifteffekte könnten bei Piezotranslatoren mit kapazitiven Sensoren ausgeschlossen werden.