Obrazowanie komórek metodą mikroskopii sił atomowych (AFM)

I. Cel Ćwiczenia.

Głównym celem ćwiczenia jest zapoznanie się z metodami pomiaru topografii oraz elastyczności komórek za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM). Pomiary wykonywane są w środowisku wodnym, dzięki czemu Student ma możliwość nauki obserwacji i pomiaru próbek biologicznych w ich naturalnym środowisku. W trakcie ćwiczenia Student poznaje również modele służące do analizy danych nanoindentacji oraz ich praktyczne zastosowanie w celu wyznaczenia modułu elastyczności dla badanych komórek/preparatów.
Wykonanie ćwiczenia na profesjonalnym mikroskopie AFM, jak również praktyczne wykorzystanie poznanych metod analizy danych, stanowi rozszerzenie ćwiczenia jakie Studenci wykonują w ramach kursu Pracowni Metod Fizycznych Biologii (PMFB).

II. Aparatura.

Mikroskop sił atomowych (AFM), komora cieczowa, mikroskop optyczny.

III. Materiał Badawczy.

Komórki śródbłonka, pochodzące z hodowli komórkowej. Preparaty komórkowe wykorzystywane w trakcie ćwiczenia są częściowo utrwalone. Badanie wykonywane jest w buforze fizjologicznym.

IV. Przebieg eksperymentu.

- Zapoznanie się z zestawem pomiarowym.
- Obserwacja montażu próbnika AFM oraz próbki w komorze cieczowej.
- Analiza badanej próbki za pomocą mikroskopu optycznego, wykonanie zdjęć.
- Wykonanie obrazów AFM topografii wybranych komórek.
- Wykonanie pomiaru krzywych siła-odległość na wybranych obszarach komórki.
- Analiza danych eksperymentalnych

V. Zagadnienia do przygotowania.

- Budowa i zasada działania Mikroskopu Sił Atomowych.
- Metoda nanoindentacji próbnikiem AFM.
- Krzywa siła-odległość.
- Modele wykorzystywane do analizy danych nanoindentacji (Model Hertza, przybliżenie Sneddona dla próbników niesferycznych).

VI. Literatura.

- Materiał wykładu dotyczący mikroskopii AFM wyłożony w ramach kursu Metody Fizyczne w Biologii i Medycynie.
- Materiały do Ćwiczenia Z51 na pracowni PMFB.

Zasady BHP podczas wykonywania Ćwiczenia

Wszelkie prace związane z bezpośrednim kontaktem z próbką biologiczną są wykonywane w rękawicach ochronnych. Główne czynności związane z założeniem preparatu do komory cieczowej mikroskopu AFM sprzężonego z mikroskopem optycznym wykonuje Prowadzący ćwiczenie. Ponieważ komora cieczowa jest układem zamkniętym, Student w trakcie wykonywania ćwiczenia nie ma bezpośredniego kontaktu z materiałem biologicznym.

Zasady pracy w pracowni pomiarów AFM

- W trakcie przebywania na terenie pracowni pomiarów AFM obowiązuje strój ochronny (fartuch, obuwie ochronne).
- Na terenie pracowni nie można wnosić odzieży wierzchniej, dużych toreb, plecaków.
- Podczas wykonywania Ćwiczenia uprasza się o nie używanie telefonów komórkowych.
- W celu zwiększenia efektywności oraz zapewnieniu bezpieczeństwa pracy, pojedyncza grupa studentów przebywająca na terenie pracowni powinna liczyć max. 2 osoby.