Technische Universität Ilmenau
Max Plank-Ring 12
Fakultät Maschinenbau
98693 Ilmenau

Forschungszentrum Jülich GmbH
Projektträger BEO
PF 1913
52428 Jülich

Abschlußbericht

Thema: **Zellfreier biomolekularer Nanoaktor**

Teilprojekt 2: **Konzipierung und Untersuchung technischer Voraussetzungen linear-motorischer Nanometer-Antriebssysteme auf der Basis mechanochemischer Proteine vom Kinesintyp**

Projekt-Nr. 0311370

Projektleitung : Prof. Dr.-Ing. H. Wurmus

Institut für Mikrosystemtechnik, Fakultät für Maschinenbau, Universität Ilmenau

Max Plank-Ring 12 Telefon: (03677) 692487
98693 Ilmenau Telefax: (03677) 691802

im Verbund mit:

Institut für Molekulare Biotechnologie, Jena
Beutenbergstr. 11 Postfach 100813
07745 Jena / Thüringen 07708 Jena/Thüringen

Institut für Mikrobiologie und Molekularbiologie, Universität Gießen
Frankfurter Str. 107
35392 Gießen

Institut für Mikrobiologie Universität Düsseldorf
Universitätsstr. 1
40225 Düsseldorf

Zeitraum der Förderung
01.02.1997-31.03.1999

Inhaltsverzeichnis:

0. EINLEITUNG 4

1. ANTRIEBSSYSTEME 5

1.1 TECHNISCH RELEVANTE PARAMETER BIOMOLEKULARER MOTOREN 7
1.2 STEUERUNGSMÖGLICHKEITEN BIOMOLEKULARER MOTOREN 8

2. TECHNISCHE AUSSTATTUNG 8

2.1 VORAUSSETZUNGEN 8
2.2 EINSCHRÄNKUNGEN 9

3. ANKOPPLUNG VON PROTEINEN AN MIKROMECHANISCHEN STRUKTUREN 9

3.1 HAFTFESTIGKEIT VON MOTOR- UND STRUKTURPROTEIN AUF SUBSTRATEN 9
3.2 MATERIALIEN UND OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT 10

4. ERMITTLUNG DER BEWEGUNGSKRAFT DER MOTORPROTEINE 13

4.1 KRAFTGENERIERUNG 13
4.2 MECHANISCHE KRAFTMESSUNG 14
4.3 ANWENDUNG VON MIKROMECHANISCHEN ELEMENTEN 15
4.3.1 Deformation einer einseitig eingespannten Si-Zunge infolge einer am Ende angreifenden Kraft 15
4.3.2 Deformation einer einseitig eingespannten SiO_2-Zunge infolge einer am Ende angreifenden Kraft 16
4.3.3 Deformation einer zweiseitig eingespannten SiO_2-Brücke infolge einer mittig angreifenden Kraft 17
4.4 AUSWERTUNG 17
4.5 ANWENDUNG VON GLASFASERN ZUR KRAFTMESSUNG 18
4.5.1 Deformation einer einseitig eingespannten Glasfaser infolge einer am Ende angreifenden Kraft 18
4.5.2 Versuchsdurchführung 20
4.6 MAGNETISCHE KRAFTMESSUNG 21
4.6.1 Anordnung mit Leiterschleife 22
4.6.1.1 Grundlagen 22
4.6.1.2 Versuchsdurchführung 28
4.6.2 Anordnung mit Eisenkreis 34
4.6.2.1 Grundlagen 35
4.6.2.2 Herstellung des Magnetkreises 40
4.6.3 Eigenschaften und Handling magnetischer Lasten zur Ankopplung an Mikrotubuli 45
4.7 FLUIDISCHE KRAFTMESSUNG 47

5. ..... ANFORDERUNGEN AN DIE UMGEBUNGSBEDINGUNGEN UND VORAUSSETZUNGEN ZUM AUFBAU EINES NANOANTRIEBES 48

5.1 KASKADIERUNG 48
5.2 ORIENTIERUNG DER MAKROMOLEKÜLE 49
5.2.1 Bewegung an Hindernissen 50

6. GRUNDKONZEPT FÜR EINEN NANOANTRIEB 51

6.1 VERWIRKLICHUNG DES GRUNDKONZEPTES 51

6.1.1 Läuferankopplung (Variante A) 51

6.1.1.1 Vorgehensweise zur Präparation des Antriebes 52

6.1.2 Start/Stop Steuerung 53

6.1.3 Weitere Ausführungsvarianten 54

6.1.4 Läufertechnologie 56

6.2 TECHNISCHE ANORDUNG 56

6.3 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG, AUSWERTUNG 57

6.3.1 Alternativen 57

7. AUSBLICK 60

7.1 AUSFÜHRUNGSVARIANTE D 60

7.2 KASKADIERUNG DES NANOANTRIEBES 60

7.2.1 Eindimensionale Kaskadierung 60

7.2.2 Zweidimensionale Kaskadierung 61

7.3 TECHNISCHE ANORDNUNG ZUR ZWEIDIMENSIONALEN STEUERUNG 62

8. ZUSAMMENFASSUNG 62

0. Einleitung

Die Erzeugung technisch nutzbarer gerichteter Bewegungs- und Transportsysteme auf biotechnologischer Basis ist das Gesamtziel des Vorhabens. Die durch den molekularen Grundaufbau vorgegebene Einzelschrittgröße mechanochemischer Proteine, z.B. bei Kinesinen von ca. 8 nm, liegt in einem Bereich, der die Gestaltung von Nanomotoren ermöglicht. Dabei wären erstmals keine von makromotorischen Funktionsgruppen vorgegebene Wirkprinzipien und damit notwendige Schrittverkleinerungsmaßnahmen erforderlich.
Es soll versucht werden, biomolekulare Struktur- und Funktionseigenschaften zytoskelettaler Komponenten zur Entwicklung kraft- und bewegungserzeugender Funktionssysteme einzusetzen. Insbesondere sind dabei die Möglichkeiten mechanochemischer Proteine (Motorproteine) zur Erzeugung translatorischer Bewegungen und zum Aufbau zellfreier biomolekularer linearmotorischer Anordnungen zu prüfen.
Die Umsetzung dieses biomolekularen Bewegungsprinzips und seine Anpassung an die Erfordernisse einer technische Nutzung wirft eine Reihe von Fragen auf, die mit dem vorliegenden Vorhaben bearbeitet werden sollen.
Ziel ist, linear (danach auch rotierend) arbeitende Nanomotoren zu entwickeln, die in In-vitro-Systemen chemische Energie in Bewegung und Transport umwandeln können.
Es werden grundsätzliche Möglichkeiten der Funktion und Steuerung (z. B. (Start/Stop, Geschwindigkeit, Funktionsstrecke, Lastabhängigkeit) untersucht. Dabei sind Funktionsdauer und Lagerbedingungen der Motoren (im inaktivierten Zustand) zu bestimmen.
Es sollen erste Anordnungen für die technische Nutzung der mittels Makromolekülen erzeugten (Nanoschritt-) Bewegungen konzipiert werden.
Erste Versuche mit komplexen Systemen sind durchzuführen und Applikationsfelder zu charakterisieren.

Für die Mikrotechnik stellt die Kontaktstelle zur Biologie aber absolutes Neuland dar. Daher sind zur Ermittlung der technischen Eigenschaften und Applikationsmöglichkeiten folgende Schritte notwendig:

- Untersuchung der Möglichkeiten zur Übertragung der Molekülbewegung auf mechanische Strukturen
- Ermittlung technischer Parameter der makromolekularen Motoren
- Untersuchung der Steuerungsmechanismen der Makromoleküle
- Untersuchungen zur Kaskadierung von Makromolekülen
- Erarbeitung erster Vorstellungen zum Aufbau von Linearantrieben auf der Basis von Makromolekül-Motoren

Schwerpunkt der ersten Arbeiten ist die Erkundung der Möglichkeiten der Kopplung der Makromoleküle mit mechanischen Funktionselementen. Die Besonderheit besteht hierbei in der notwendigen Beherrschung mechanischer Einrichtungen im µm-Bereich mit hoher Auflösung (nm) bei minimalen Kräften und Wegen.

1. Antriebssysteme

Unter „Antreiben“ versteht man im technischen Sinne das zeitlich und räumlich definierte Bewegen eines Körpers unter dem Einfluß von Bewegungswiderständen. Bei jedem Antrieb eines Gegenstandes wird mechanische Arbeit verrichtet deren notwendige Energie von einer Energiequelle bereitgestellt wird. Die Energie wird in Bewegungsenergie umgewandelt und an die funktionellen und strukturellen Bedingungen des zu bewegenden Körpers angepaßt.
Die einzelnen Komponenten zur Energiewandlung und -steuerung bilden in ihrer Gesamtheit das Antriebssystem. Die zeitabhängige Lageänderung eines Körpers in einem Bezugssystem nennt man Bewegung die durch die grundsätzlichen Merkmale „Bewegungsform“ und „Bewegungsablauf“ charakterisiert werden. Unter dem Bezugssystem versteht man die geometrische Anordnung aufeinanderfolgender Positionen eines Körpers. Der Bewegungsablauf dagegen ist die zeitliche Aufeinanderfolge der Positionen, d.h. der funktionelle Zusammenhang zwischen Weg und Zeit. Die Orientierung der Positionsfolge wird als Bewegungssinn bezeichnet. Von einer gleichsinnigen Bewegung spricht man , wenn die Positionsfolge beibehalten wird. Kehrt sich die Positionsfolge in ihrer Orientierung zwischenzeitlich um, spricht man von einer wechselsinningen Bewegung.
Weiterhin kann bei der Charakterisierung des Bewegungsablaufes in Bewegungsphasen, Ruhephasen und Bewegungsumkehr unterschieden werden.

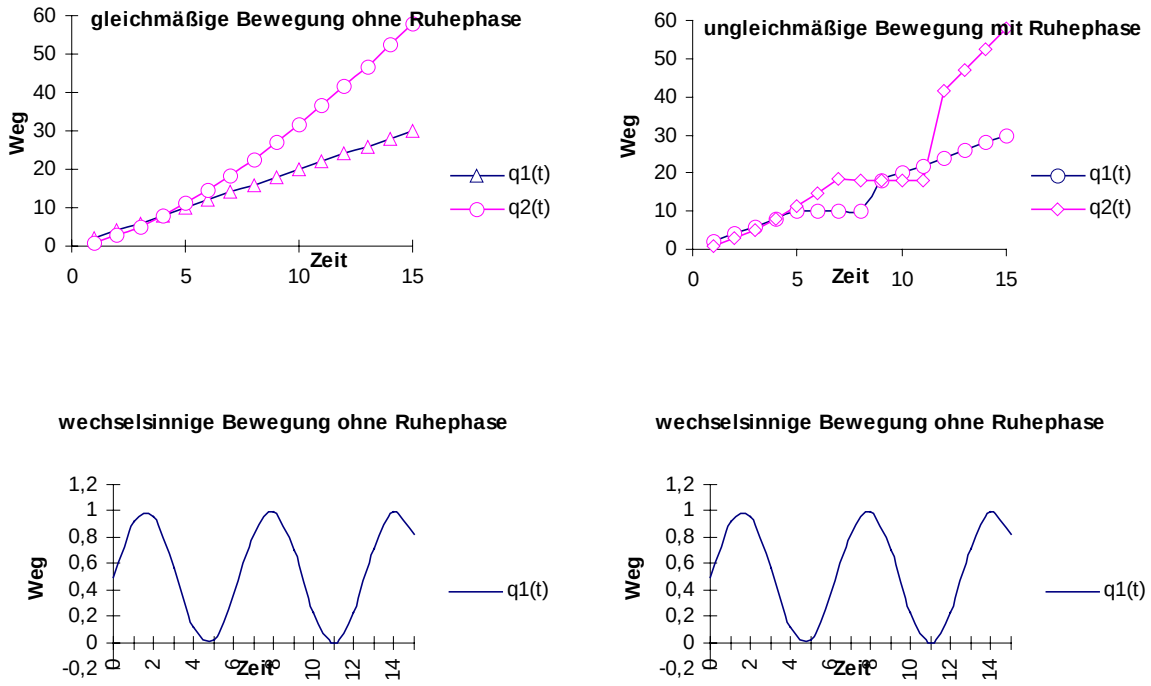


Abbildung 1: Bewegungsabläufe

Bei der Gestaltung von Bewegungsabläufen ist der Forderung nach stetiger Differenzierbarkeit der Funktion q(t) grundsätzlich Rechnung zu tragen.
Ein Antriebssystem setzt sich im allgemeinen aus 4 Komponenten zusammen.

1) Dem WIRKELEMENT (WE) oder auch Arbeitsorgan genannt.
2) Dem eigentlichen ANTRIEBSELEMENT (AE) oder der Energiewandler und
3) Den ÜBERTRAGUNGSELEMENTEN (ÜE), welche die mechanische Leistung an die Wirkstelle leiten.
4) STEUERELEMENTEN (SE)

In der klassischen Antriebstechnik sind die Wirkprinzipien physikalischer Natur, wie z.B. elektrostatisch, piezoelektrisch, elektromagnetisch, magnetomechanisch, elektrodynamisch, thermisch, pneumatisch oder mechanisch.
Um eine vorgegebene Bewegung zu realisieren, ist es notwendig den Leistungsfluß durch das STEUERELEMENT (SE) zu beeinflussen. Dabei unterscheidet man grundsätzlich 3 Möglichkeiten.

1. Die Beeinflussung durch die Antriebsenergie,
2. durch die Steuerung des Leistungsflusses am Übertragungselement,
3. durch die Variation des Bewegungswiderstandes (Belastung).

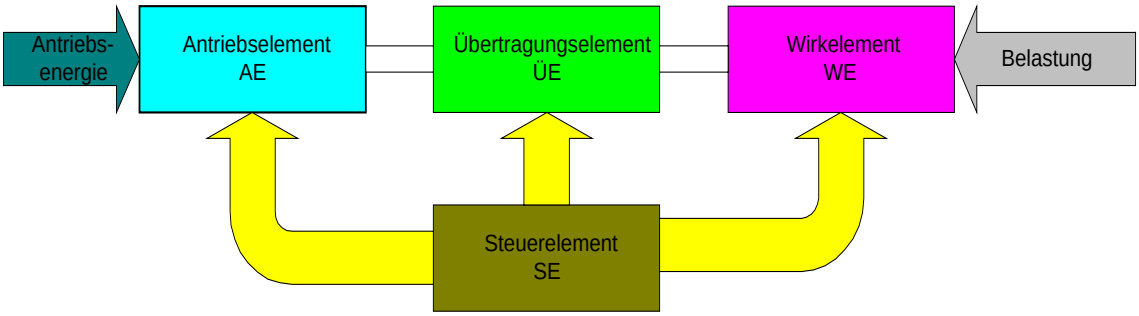
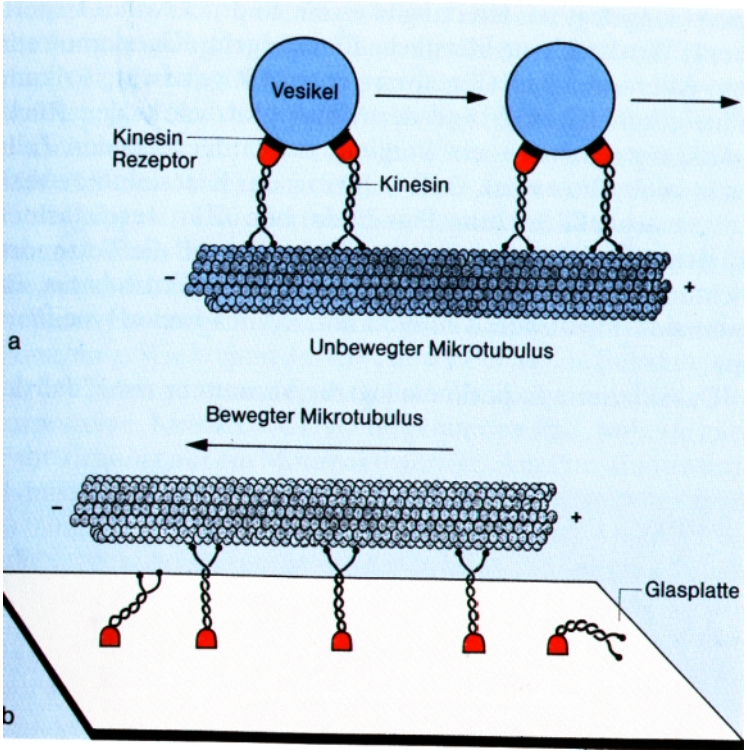


Abbildung 2: Grundaufbau eines Antriebssystems



In lebenden Organismen existieren noch weitere Wirkprinzipien, die chemischer (biologischer) Natur sind. Diese biologischen Motoren bestehen aus Struktur- und Motorproteinen, die in Zellen zum Stofftransport dienen.

Die Arbeiten im Rahmen dieses Teilprojektes werden sich ausschließlich auf eine spezielle Gruppe von Motor- und Strukturproteinen stützen. Das sind die Kinesinmoleküle in Verbindung mit dem Makromolekül Tubulin (Mikrotubuli). Die Strukturproteine bilden z.B. Röhren (Mikrotubuli) oder Ringe an denen sich die Motorproteine (Kinesine) anlagern und fortbewegen.

Abbildung 3: Prinzipdarstellung des Transportes durch Motorproteine

Für Untersuchungen der Bewegungseigenschaften bringt man Motorproteine und Mikrotubuli auf eine feste Unterlage (z.B. Glas). Unter diesen Bedingungen kann man prinzipiell zwischen 2 Bewegungsarten unterscheiden.

1. Die Mikrotubuli werden an die Unterlage chemisch fest gebunden. Die Motorproteine bewegen sich durch Bindungsplatzwechsel der beiden Köpfe am Tubulus. An den freien Rezeptoren kann Transportgut gebunden werden (siehe Abbildung 3 a).
2. Die Umkehrung der Anordnung bewirkt das feste Binden der Kinesine am z.B. Glas. Der Mikrotubulus wird vom Kinesin getragen und linear fortbewegt. (siehe Abbildung 3 b).

Es ist zu beachten, daß der Platzwechsel der Kinesinköpfe immer in Richtung des positiven Endes der Tubuli erfolgt. Daraus ergeben sich entgegengerichtete Bewegungen für Fall a und b.
Diese beiden Bewegungsarten stellen die Basis für alle weiteren Untersuchungen dar.

Die Bestandteile des biologischen (chemischen) Antriebssystems lassen sich ebenfalls in die Grundstruktur eines klassischen Antriebes einordnen. Es wurde definiert:

AE: Motorproteine (**Kinesinmoleküle**)
ÜE: Strukturproteine (**Mikrotubuli {MT} oder Makromoleküle**)
WE: angekoppelte zu transportierende Stoffe biologischer oder pysikalischer Art
SE: Information, Temperatur, Konzentration von Kofaktoren in der Lösung (z.B. Ca^{2+}, Sr^{2+} ,Ba^{2+}) [6]
Antriebsenergie: chemische Reaktionen z.B. Hydrolyse von ATP (AdenosinTriPhosphat).
Belastung: Diffusions-, Strömungsgradienten, Elastizitäten, Reibung

1.1 Technisch relevante Parameter biomolekularer Motoren

Kinesin

Größe:	100 nm
Masse:	$600*10^{-24}$ kg (360 kDa)
Kraft:	1 bis 6 pN
Schrittweite:	8 nm
Schrittfrequenz:	10 bis 150 Hz
Bewegungsrichtung:	zum „+“Ende des Mikrotubus hin
Geschwindigkeit:	0,1 bis 1 µm/s
Energie:	$8*10^{-21}$ Nm
Leistung:	$1*10^{-18}$ W
Leistungsdichte:	1,6 W/g
Betriebstemperatur:	ca. 20°-40° C
Lagertemperatur:	≤ -78° C

Mikrotubuli

Größe:	Durchmesser:	15-25 nm,
	Länge:	5-20 µm,
Lebensdauer unter Betriebsbed.:		3-4 Stunden
Besitzt Dipoleigenschaft		

1.2 Steuerungsmöglichkeiten biomolekularer Motoren

Die technische Nutzung von biomolekularen Motoren setzt eine Anpassung an technische Systeme voraus und damit auch eine Steuerungsfähigkeit durch diese.

Die zu wichtigsten zu steuernden Parameter sind:

- Start/Stop
- Bewegungsrichtung
- Richtungssinn der Bewegung
- Bewegungsgeschwindigkeit

Im biologischen System wirkt das SE lediglich auf das AE ein. Die Kinesinmoleküle werden je nach Transportaufgabe die Information, sich mit bestimmter Geschwindigkeit zu bewegen. Da die Steuerung rein chemisch erfolgt, ist ein Eingreifen mit technischen Mitteln sehr schwierig. Außerdem sind die Diffusionsprozesse sehr langsam und nicht immer reversibel.
Es erscheint daher sinnvoll, die Steuerung am ÜE (Tubuli) oder WE vorzunehmen. Hierfür kommen folgende Steuerungsprinzipien in Betracht:

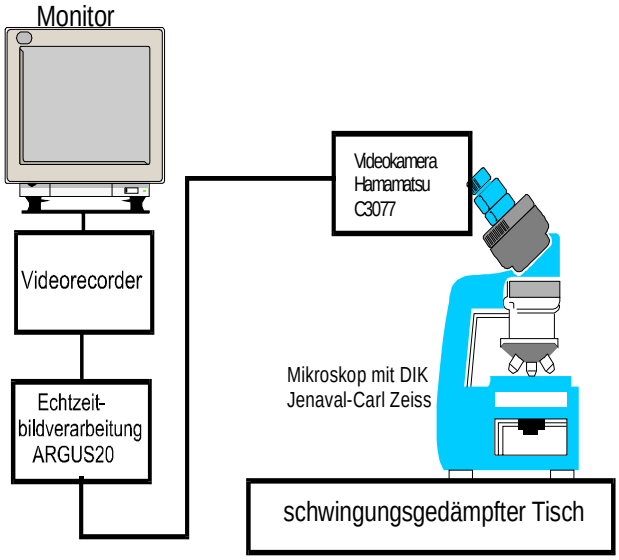
- Physikalische Felder (elektrisch, magnetisch, akustisch...)
- Elektromagnetische Wellen
- Mechanische Größen (Einfluß auf Bewegungsfreiheit)
- Koppelbedingungen (Ausnutzung der Bindungseigenschaften der Proteine)

Eine Beeinflussung der Beweglichkeit durch magnetische Felder ist bislang nicht bekannt. Untersuchungen zur Wirkung von elektrischen Feldern wurden beim IMB Jena durchgeführt. Weiterhin gibt es keine Aussage in der Literatur zur Beeinflussung durch kohärentes Licht (LASER) z.B. mit λ</=700 nm . Da die Größe der Tubuli jedoch in der Größenordnung der Lichtwellenlänge könnten die Mikrotubuli als Antenne für ektromagnetische Wellen (Licht) wirken und in Wechselwirkung treten.
Als weitere Möglichkeit bleibt die mechanische Einwirkung auf die Tubuli bzw. auf die Koppelstellen zwischen den Proteinen untereinander oder zum WE. Dafür sind mechanische Strukturen und Steuerungsmechanismen in der Größenordnung S<100µm notwendig, in denen die Systeme angeordnet und untersucht werden. Die Mikrostrukturtechnologie bietet die Voraussetzung für die Realisierung solcher Anordnungen.

2. Technische Ausstattung

2.1 Voraussetzungen

Um die Vorgänge in einem Bewegungsassay zu untersuchen, ist die optische Beobachtung unerläßlich. Die unmittelbare Manipulation (Steuerung) des Bewegungsverhaltens schließt die Verwendung von hochauflösenden Abbildungsverfahren (Sonden-, oder Elektronenmikroskopie) aus. Einzige Möglichkeit ist die Lichtmikroskopie, mit deren Hilfe nur die Mikrotubuli wie in Abbildung 4 abzubilden sind. Aufgrund der Größe und des Kontrastverhaltens der Mikrotubuli bedarf es spezieller Mikroskopierverfahren. Durchgesetzt hat sich die Nutzung von differentiellem Interferenzkontrast in Verbindung mit Kamera und Echtzeitbildverarbeitungssystem ARGUS-20 der Fa. Hamamatsu zur Videokontrastverstärkung (siehe Abbildung 5).



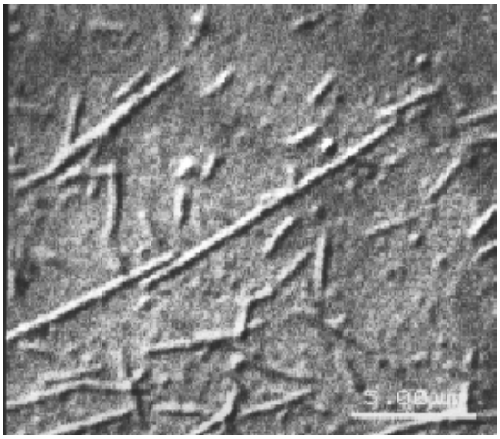


Abbildung 4: Mikroskopaufnahme „Mikrotubuli

Abbildung 5: Aufbau zur Vidiokontrastmikroskopie

2.2 Einschränkungen

Die Notwendigkeit der aufwendigen mikroskopischen Beobachtung bei allen Untersuchungen des molekularen Materials schränkt die Möglichkeiten der Versuchsdurchführung und –auswertung stark ein. Das betrifft hauptsächlich:

- den geringen Objektabstand zwischen Objektiv und Präparat, welcher kaum eine Manipulation am Präparat während der Beobachtung zuläßt.
- die Verwendung von Immersionsöl, was das Abdecken der Probenkammer (Deckglas) immer erfordert.
- die Verwendung von hochwertigen, sehr glatten (spiegelnden) Supportoberflächen des Bewegungsassay´s, die nach der Kontrastverstärkung nicht die Makromoleküle überstrahlen. Das schließt ebenfalls die gleichzeitige optische Abbildung von Nanoaktoren und Mikrostrukturen aus.

3. Ankopplung von Proteinen an mikromechanischen Strukturen

Die Ankopplung der Nanoaktoren weist eine Reihe von Besonderheiten auf, die in reinen physikalischen Systemen weniger in den Vordergrund treten.

- Die chemische Bindung des Motorproteins Kinesin ist abhängig vom Material der Funktionsflächen.
- Die Anwesenheit von Erdalkalimetallen sowie andere Verunreinigungen beeinflussen in starkem Maße die Beweglichkeit der Mikrotubuli [6].

3.1 Haftfestigkeit von Motor- und Strukturprotein auf Substraten

Sowohl Kinesinmoleküle als auch Mikrotubuli koppeln an verschiedene Materialien mit unterschiedlicher Haftfestigkeit. Zur Bewertung des Bindungsverhaltens auf mikrotechnisch relevanten Materialien sind Silizium, Si-Dioxid und Si-Nitrid Layer präpariert worden. Desweiteren wurden Deckgläser mit einer Reihe von Metallen (Gold, Gold-Palladium, Silber,

Chrom, Kupfer, Aluminium) beschichtet. Die Schichtdicken betrugen 10...50nm, so daß sie transparent blieben und mit Auf- oder Durchlichtmikroskopie gearbeitet werden kann. Die Montage einer dünnen piezokeramischen Platte auf der Unterseite der Deckgläser ermöglicht die Einprägung einer Ultraschallschwingung in die Bewegungsebene. Das Ablösen von Molekülen vom Trägermaterial bei definierten Anregungszuständen ist ein Maß für die Haftfestigkeit der Moleküle am jeweiligen Stoff.
Die Frage der Bindungsaktivität ist entscheidend für die Auswahl von biologisch und mikrotechnologisch kompatiblen Materialien in einem technischen Gebilde. Neben einer starken Molekülankopplung an Supports bzw. Lasten sind die Stoffe mit geringen Hafteigenschaften ebenfalls interessant. Die gezielte Anwendung von entsprechenden Materialkombinationen schafft z.B. bewegungsaktive und -passive Zonen in der Ebene.
Als Konstruktionsmaterial spielt in der Mikrosystemtechnik das Silizium eine bedeutende Rolle. Die Dichte des Siliziums beträgt 2,32 g/cm³, seine Härte 8,5 bis 11 GPa (GN/m²) , sein E-Modul 130 bis 190 GPa und seine Zugfestigkeit 2,8 bis 6,8 GPa.
Die chemische Verträglichkeit von Silizium mit den Proteinen Kinesin und Tubulin wird als unbedenklich eingeschätzt. Gleiches chemisches Verhalten in Bezug auf Kinesin zeigt Siliziumdioxid, welches dadurch ebenfalls als Konstruktionswerkstoff geeignet scheint.
Untersuchungen auf chemische Verträglichkeit mit und zur Haftfestigkeit auf diesen und anderen Werkstoffen sind Bestandteil weiterer Untersuchungen am IMB-Jena bzw. an der TU-Ilmenau. Daraus sind Auswirkungen auf die Bewegungsintensität und Kraftgeneration abzuleiten.

3.2 Materialien und Oberflächenbeschaffenheit

Der experimentelle Umgang mit Motorproteinen in Zusammenhang mit Videokontrastmikroskopie beschränkte sich bislang auf konventionelle Präparate. Das heißt die Verwendung von standardisierten Objektträgern und Deckgläsern für die Durchlichtmikroskopie. Die Aufgabe, einen Nanoaktuator unter Anwendung der Mikrosystemtechnik zu entwickeln setzt die Kompatibilität von molekularbiologischen und mikrotechnischen Bestandteilen voraus. Das bezieht sich sowohl auf Stoffeigenschaften als auch auf die angewandten Technologien. Grundlegende Forderung für alle Untersuchungen ist die Beobachtbarkeit der Vorgänge im Bewegungsassay. Es ist deshalb insbesondere die hohe Oberflächengüte des Trägermaterials zu gewährleisten, welche für die optische und elektronische Kontrastverstärkung erforderlich ist. Andererseits sind die Funktionsflächen zur Ankopplung in ihrer Oberflächenrauhigkeit der Größe der Kinesinmoleküle anzupassen. Es ist davon auszugehen, daß Rauheiten größer 100nm Auswirkungen auf die Beweglichkeit der Proteine hätten, weniger auf ihre Ankopplungsfähigkeit.
Als Substratmaterialien für die Mikrostrukturtechnik, deren Oberflächen durch mechanische und chemische Polierverfahren ausreichend geglättet sind, kommen im Wesentlichen

- Silizium,
- Borosilikatglas,
- Quarzglas in Frage.

Die mittleren Rauhigkeiten **Ra** dieser Flächen betragen 10 bis 15nm (siehe Abbildung 6). Die optische Bewertung von Silizium-Wafern ergab erhebliche Unterschiede bezüglich der optischen Eigenschaften polierter Oberflächen. Obwohl identische Rauheiten gemessen worden waren, zeigte die Videokontrastmikroskopie starke Riliefunterschiede. Die Ursache dafür wird in Schwankungen der Ortsfrequenz der Profilamplituten gesehen, die optisch sehr kontrastreich erscheinen und alle Moleküle überstrahlen.

Die Abscheidung verschiedener metallischer oder nichtmetallischer Schichten auf den genannten Substraten ermöglichen die Änderung der Eigenschaften der Kopplungsfläche der Motorproteine. Desweiteren lassen sich die hochwertigen Oberflächeneigenschaften der Substrate teilweise auf diese Schichten übertragen und somit weitere geeignete Substrate erzeugen.
Die Schaffung eines komplexen, steuerbaren Nanoaktuators ist nur durch die Strukturierung der Substrate möglich. Dafür stehen unterschiedliche Mikrostrukturtechnologien zur Verfügung. Dabei handelt es sich hauptsächlich um chemische und physikalische Tiefenätztechniken. Allerdings erhöhen sich die Rauhigkeiten infolge des inhomogenen Stoffabtrages sehr stark (siehe Abbildung 7 bis Abbildung 10).
Für experimentelle Untersuchungen der Motorproteine auf Si-Supports sind nur ausgewählte Silizium- oder Glassubstrate mit ausreichend guter optischer Qualität geeignet. Die Bewegungsebene muß dabei stets auf einer nicht strukturierten Fläche liegen.

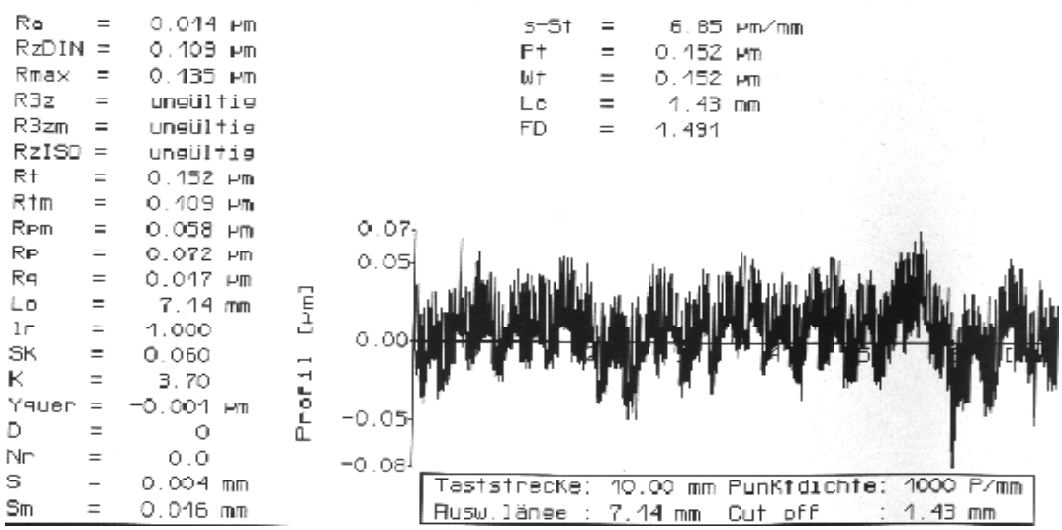


Abbildung 6: Siliziumdioxid

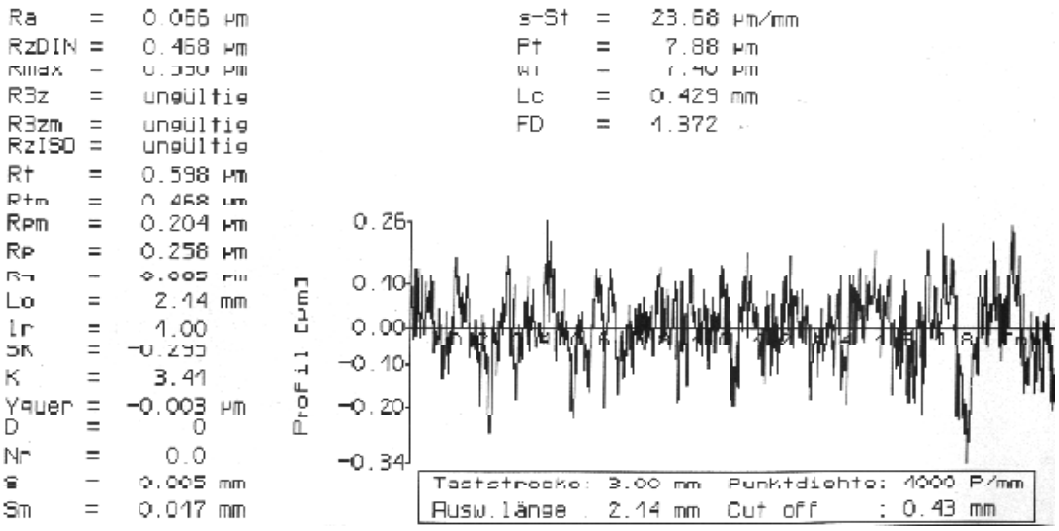


Abbildung 7: Silizium naßchemisch anisotrop geätzt mit Polierzusatz

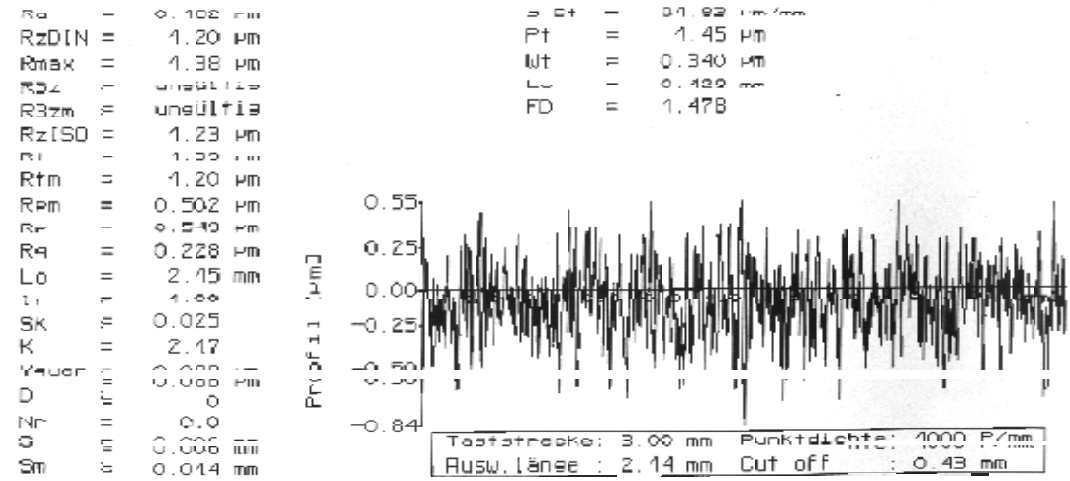


Abbildung 8: Silizium naßchemisch anisotrop geätzt, ohne Zusätze

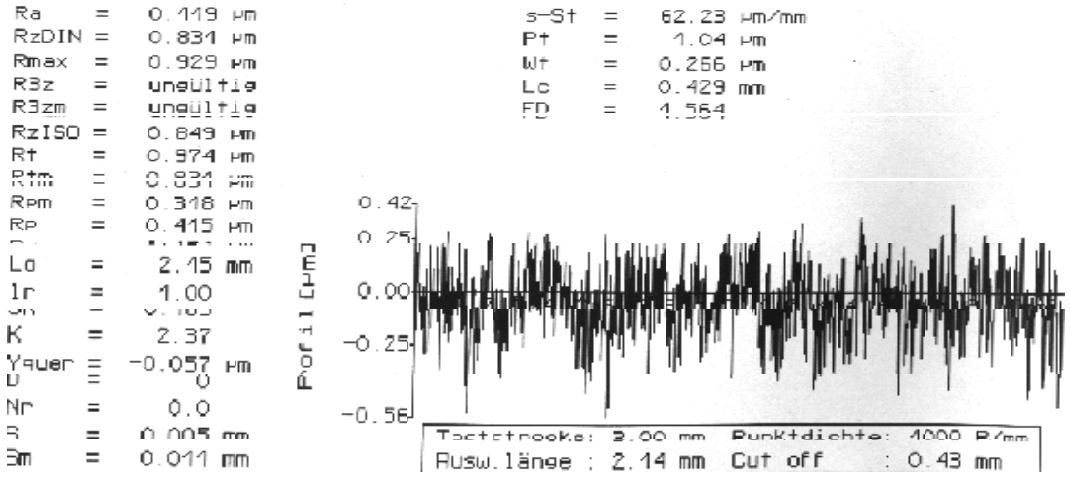


Abbildung 9: Silizium naßchemisch isotrop geätzt

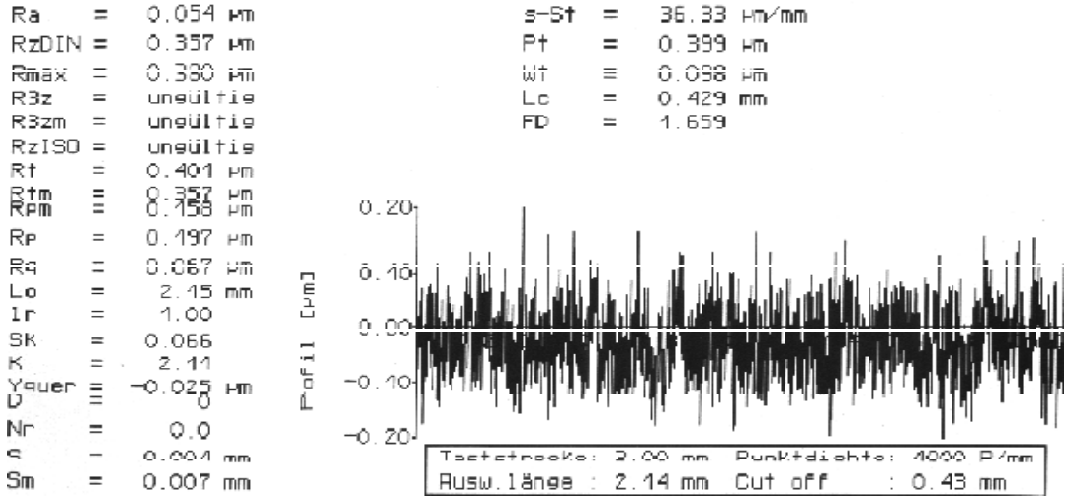


Abbildung 10: Silizium geätzt durch Reaktives Ionenätzen

4. Ermittlung der Bewegungskraft der Motorproteine

Zur Beurteilung von Applikationsmöglichkeiten sind technische Parameter des einzelnen makromolekularen Antriebes zu ermitteln. Interessant sind Parameter der Bewegung als Funktion von Temperatur, Umgebungsparameter u.a. wie
Lastabhängigkeit der Geschwindigkeit,
maximale Haftkraft,
Blockierkraft (Maximalkraft bei v = 0).
Diese Parameter sind sowohl für das Einzelmolekül interessant, als auch für Molekülgruppen.

4.1 Kraftgenerierung

Die mechanische Kraft, welche von einem bzw. einer Gruppe von Motorproteinen generiert wird, stellt eine wichtige technische Größe dar. Insbesondere der Parameter Blockierkraft kann zur Charakterisierung eines möglichen Nanoantriebes beitragen. Die Blockierkraft wirkt stets in Wegrichtung und gibt die Maximalkraft bei verhinderter Bewegung an. Daraus können folgende Aussagen abgeleitet werden:

- wie hoch der Kaskadierungsgrad von Motor- und Strukturproteinen zu wählen ist;
- welche Art von Lasten transportiert werden können;
- wie die Ankopplung der Last zu gestalten ist (punkt-, linien-, flächenhaft);
- wie verhalten sich Fortbewegung und Bewegungsgeschwindigkeit der Proteine bei veränderlicher Last.

Die Kraft wird nur vom Motorprotein Kinesin (Antriebselement) erzeugt. Deren Betrag wird mit 0.1pN bis 5pN für ein Einzelmolekül angegeben [1], [2]. Die große Streuung verdeutlicht die meßtechnische Schwierigkeit bei der Ermittlung dieses Wertes.
Das Motorprotein kann diese Kraft allerdings nur in Anwesenheit eines Strukturproteins (Mikrotubulus) freisetzen und in Bewegungsenergie umwandeln. Der dabei zurückgelegte Weg beträgt pro Schritt 8nm. Die Einheit von Motor- und Strukturprotein bilden ein eigenständiges Bewegungssystem von Antriebs- und Wirkelement. Für eine technische Nutzung der Bewegungsenergie dieses Systems ist es sinnvoll, die Einheit lediglich als Antriebs- und Übertragungselement zu betrachten. An diese Untereinheit kann dann das Wirkelement und die Last ankoppeln. Aus einer derartigen Modellvorstellung resultiert, daß die Bewegungskraft von einzelnen Kinesinmolekülen technisch nicht relevant ist. Von Interesse ist vielmehr die Kraftgeneration der gesamten Untereinheit. Das heißt, im Vordergrund steht die Aufgabe der Bestimmung der Kraft-Weg-Abhängigkeit eines Mikrotubulus.
Hierbei ist zu beachten, daß ein angetriebener Mikrotubulus bereits eine parallelisierte Anordnung darstellt, denn an einem Mikrotubulus binden mehrere Kinesine. Unbekannt ist allerdings die Anzahl der gebundenen sowie die Zahl der an der Bewegungserzeugung aktiv beteiligten Motorproteine. Schon aus diesem Grund reicht es nicht aus, das Einzelmolekül zu charakterisieren. Auch der umgekehrte Weg, aus der Kraft des Mikrotubulus mittels der o.g. Kinesinkraft auf die Anzahl der aktiven Moleküle zu schließen, erscheint wenig erfolgreich. Voraussetzung für eine Summierung aller Einzelkräfte wäre nämlich das synchrone Arbeiten aller Antriebselemente. Darüber existieren bislang keine Erkenntnisse.
Da die Mikrotubuli unterschiedliche Längen aufweisen, sollte es möglich sein, einen Zusammenhang zu finden zwischen der zur Kinesin-Anbindung freien Strukturlänge und der jeweiligen mittleren Bewegungskraft des Tubulus.
Will man die Kraft aus dem krafterzeugenden System der Motorproteine auskoppeln, sind mechanische Funktionselemente notwendig, die die Arbeitsverrichtungen vornehmen.

Die gewünschten Bewegungen unterliegen dabei Gesetzmäßigkeiten, die durch die Weg-Zeit-Charakteristik beschrieben werden.

4.2 Mechanische Kraftmessung

In der Literatur werden vor allem Methoden zur optischen Messung der Bewegungskraft von Motorproteinen beschrieben.
Im Rahmen dieses Teilprojektes wurden die meßtechnischen Möglichkeiten der Mikrostrukturtechnologie auf der Basis von Silizium näher untersucht.
Das Grundprinzip einer derartigen Krafterfassung beruht auf der Deformation von elastischen Elementen unter Krafteinwirkung. Die Größe der Verformung, welche auf einachsige Biegung und/oder Torsion beschränkt ist, ist proportional zur angreifenden Kraft. Mit Hilfe verschiedener Strukturierungsverfahren können 3-dimensionale Geometrien im Mikrometerbereich geschaffen werden. Generell eignen sich planare Strukturen wie Zungen, Brücken und Mäander. Während Mäanderstrukturen technologisch bedingt nur parallel zur Si-Waferoberfläche realisiert werden können, sind z.B. Zungen auch senkrecht zur Bearbeitungsebene stehend möglich (siehe Abbildung 12).
Die Herstellung solcher Elemente erfolgt durch naßchemische oder plasmaunterstützte Tiefenätzprozesse von Silizium. Die beweglichen Deformationskörper werden so aus dem Si-Festkörper herausgelöst, daß sie lediglich noch mit einer oder 2 Seite(n) befestigt sind. Die zu messende Bewegungskraft der Mikrotubuli muß so eingeleitet werden, daß eine maximale Deformation des Biegekörpers (hohe Sensorempfindlichkeit) entsteht. Das bedeutet, die Biegeachse muß in der Ebene der geringsten Steifigkeit liegen und der Kraftangriffspunkt soll möglichst weit von der Einspannung der Zunge entfernt sein. Hierin besteht eine der Schwierigkeiten, dieses Meßprinzipes. Es wird eine direkte mechanische Kopplung zwischen dem Meßobjekt (Mikrotubulus) und dem Sensorelement benötigt. Gleichzeitig darf die Auslenkung des Sensors nicht durch Haft- oder Gleitreibung gehemmt werden. Die direkte Integration von Deformationskörpern in die Bewegungsebene der Motorproteine ist anzustreben, ist aber unter den genannten Restriktionen nur sehr eingeschränkt möglich. Eine Alternative zur Integration der Mikrostrukturen ist deren externe Positionierung und Einbringung in die Bewegungsebene sowie Ankopplung der Mikrotubuli mittels eines hochauflösenden Positioniersystems (siehe Abbildung 11).
Dieses Positioniersystem erlaubt die Positionierung in der X,Y und Z Ebene in einem Bereich von ±3mm und mit einer Auflösung von 10 nm. Die Ankopplung der Sensorelemente und Auswertung der Deformation muß stets unter dem Video-Kontrast-Mikroskop erfolgen. Dabei tritt das Problem des kleinen Arbeitsabstandes unter dem Objektiv in den Vordergrund. Hier kommt daher nur eine beleuchtungsseitige Manipulation in Frage.

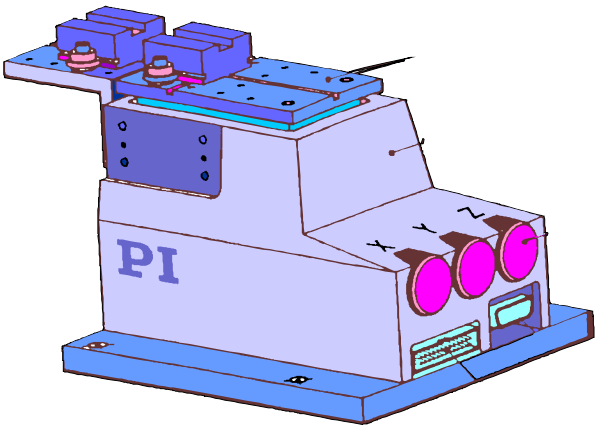


Abbildung 11: Positioniersystem „Light Line“

Für technisch sinnvolle und technologisch machbare Sensoranordnungen wurde zunächst eine analytische Abschätzung getroffen (siehe Abschnitt „Deformationsberechnungen“). Als Material für die Biegekörper wurde Silizium, Siliziumdioxid bzw. Siliziumnitrid gewählt. Die Stoffe besitzen ideale elastische Eigenschaften. Die Isolatorstoffe können durch Dünnschichttechniken im Vergleich zu Silizium wesentlich nachgiebiger gestaltet werden.
Unter der Annahme einer Vielzahl von aktiven am Mikrotubulus mittlerer Länge gebundenen Kinesinmolekülen wurde als äußere, zu messende Kraft ein Wert von **100pN** angesetzt. Weiterhin wurde festgelegt, daß die Auslenkung des Biegekörpers am Kraftangriffspunkt **1µm** beträgt. Diese Verschiebung kann unter dem Lichtmikroskop noch sicher erfaßt werden. Die Berechnung liefert die erforderlichen Strukturlängen, welche diese Auslenkung ermöglichen.

4.3 Anwendung von mikromechanischen Elementen

Die einfachste Art eine Kraft zu messen, ist diese an einem Federelement angreifen zu lassen und dessen Auslenkung zu messen. Ist die Federkonstante des Materials bekannt, kann man die angreifende Kraft ausrechnen.
Dienen mikromechanische Federelemente zur Kraftmessung, können diese die Form von geätzten Silizium- oder SiO_2 -Zungen haben. Die Berechnungen geben einen Überblick über die Größenverhältnisse, in welchen mit diese Zungen Kräfte gemessen werden können.

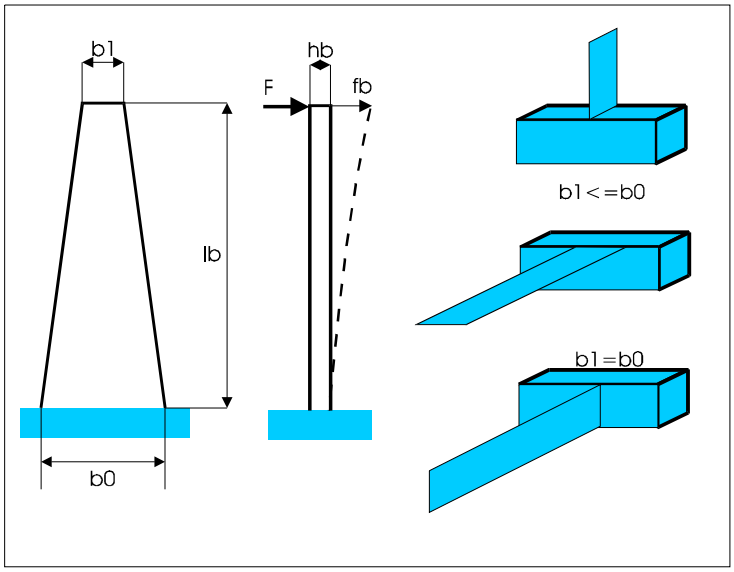


Abbildung 12: Kraftmessung mittels mikromechanischer Strukturen

4.3.1 Deformation einer einseitig eingespannten Si-Zunge infolge einer am Ende angreifenden Kraft

$E_{Si} := 155 \cdot 10^9 \cdot Pa$ E-Modul von Silizium in [N/m*m]

$E_G := 60 \cdot 10^9 \cdot Pa$ E-Modul von Glas in [N/m*m]

$E_N := 290 \cdot 10^9 \cdot Pa$ E-Modul von Silizium-Nitrid in [N/m*m]

$E_{PK} := 67 \cdot 10^9 \cdot Pa$ E-Modul von Piezokeramik in [N/m*m]

$E_{ZnO} := 137 \cdot 10^9 \cdot Pa$ E-Modul von Zink-Oxid in [N/m*m]

$\rho_G := 2300 \cdot \frac{kg}{m^3}$ Dichte von Glas

$my0 := 0.1$ Reibkoeffizient Glas-Glas

$F := 100 \cdot 10^{-12} \cdot N$ angreifende Punktkraft

$f := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Auslenkung am Ende der Zunge

$b0 := 500 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Breite der Zunge an der Einspannung

$b1 := 5 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Breite der Zunge am Ende

$h := 10 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Dicke der Si-Zunge

$E := E_{Si}$

$\beta := \frac{b1}{b0}$ $\beta = 0.01$

β	0	.1	.2	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9	1
k1	1.5	1.38	1.3	1.25	1.2	1.16	1.12	1.07	1.04	1.02	1

$k1 := 1.5$

$I_a := \frac{b0 \cdot h^3}{12} \cdot \frac{1}{k1}$ äquatoriales Flächenträgheitsmoment für rechteckigen Querschnitt

$l_{Si} := \left(\frac{3 \cdot E \cdot I_a \cdot f}{F}\right)^{\frac{1}{3}}$ $l_{Si} := l_{Si} \cdot \frac{10^3}{m}$

$l_{Si} = 50.549$ ***notwendige Länge einer Si-Zunge in [mm]***

4.3.2 Deformation einer einseitig eingespannten SiO_2-Zunge infolge einer am Ende angreifenden Kraft

$h := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Dicke einer SiO2- Zunge (in der Waferoberfläche)

$b0 := 10 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Breite der Zunge an der Einspannung

$b1 := 10 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Breite der Zunge am Ende

$E := E_G$ $k1 := 1$

$I_a := \frac{b0 \cdot h^3}{12} \cdot \frac{1}{k1}$

$l_{Ox} := \left(\frac{3 \cdot E \cdot I_a \cdot f}{F}\right)^{\frac{1}{3}}$ $l_{Ox} := l_{Ox} \cdot \frac{10^3}{m}$

$l_{Ox} = 1.145$ ***notwendige Länge einer Oxid-Zunge in [mm]***

4.3.3 Deformation einer zweiseitig eingespannten SiO_2-Brücke infolge einer mittig angreifenden Kraft

$h := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Dicke einer SiO2- Zunge (in der Waferoberfläche)

$b := 20 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Breite der Brücke

$E := E_G$

$I_a := \frac{h \cdot b^3}{12}$

$l_B := \left(\frac{192 \cdot E \cdot I_a \cdot f}{F}\right)^{\frac{1}{3}}$ $l_B := l_B \cdot \frac{10^3}{m}$

$l_B = 42.506$ ***notwendige Länge einer Oxid-Brücke in [mm]***

4.3.4 Deformation eines zweiseitig eingespannten SiO_2-Mäanders infolge einer mittig angreifenden Kraft

$h := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Dicke des SiO_2- Mäanders (in der Waferoberfläche)

$b := 20 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Breite eines Mäandersteges

$E := E_G$

$l_M := 500 \cdot 10^{-6} \cdot m$ mögliche Länge eines Mäandersteges

$I_a := \frac{h \cdot b^3}{12}$

$n := 48 \cdot \frac{f}{\left(F \cdot l_M^3\right)} \cdot E_G \cdot I_a$

$n = 1.536 \cdot 10^5$ notwendige Anzahl der Stege des Mäanders

$B := 1.5 \cdot b \cdot n$

$B = 4.608 \cdot m$ ***Gesamtbreite der Struktur***

4.4 Auswertung

Die erforderlichen Strukturgrößen sind enorm, gemessen an mikromechanischen Dimensionen. Betrachtet man die Längen-Dicken-Verhältnisse (bis zu 5000) oder Längen-Breiten-Verhältnisse (bis zu 500), so werden die technologisch beherrschbaren Abmessungen weit überschritten. Dennoch wurden Versuche zur Erzeugung derartiger Strukturen, hauptsächlich von Zungen, durchgeführt.

Die längsten funktionsfähigen Biegezungen hatten eine Hebellänge von 500µm, bei einer Breite von 30µm und einer Dicke von 500nm (siehe Abbildung 13). Längere bzw. schmalere Stege waren nach Prozeßende nicht mehr intakt. Die Zungen bestanden aus einer trocken geätzten Si-Nitrid-Schicht, die einem Si-Wafer mittels eines CVD-Prozesses abgeschieden wurde. Nach einem naßchemisch anisotropen Tiefenätzen des Si unterhalb der Stege erhielt man frei tragende, einseitig eingespannte Deformationskörper.

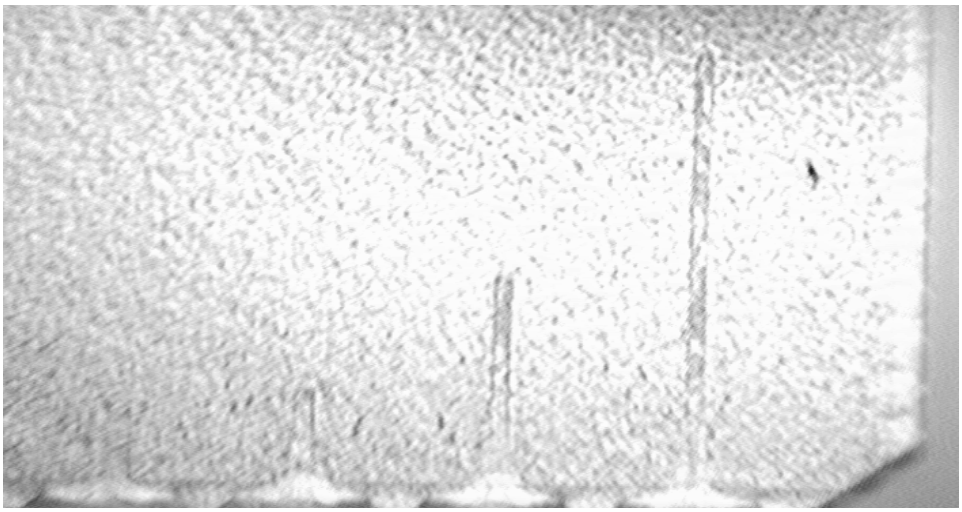


Abbildung 13: Si-Oxidzungen

Bei einer Krafteinprägung von 100pN am freien Ende senkrecht zur Waferebene würde die Verschiebung aus der Ebene nur ca. 6nm betragen. Dieser Wert ist zu klein, um lichtmikroskopisch detektiert zu werden.

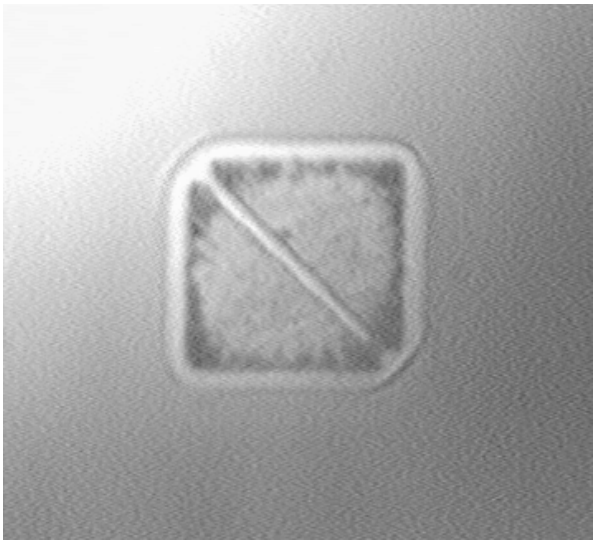


Abbildung 14: Si-Oxidbrücke

Bei anderen Sensorstrukturen wie Brücken **(**siehe Abbildung 14) oder Mäander liegen die geometrischen Verhältnisse noch ungünstiger, da die Verformung in der Waferebene und damit nicht um die nachgiebigste Biegeachse erfolgt.

Auf Grund der nicht handhabbaren Sensorstrukturen wurde auf weiterführende Untersuchungen zur mikromechanischen Messung der Kraft von Mikrotubuli verzichtet.
Als Alternative dazu wurden makroskopische Deformationskörper auf ihre Eignung zur Aufgabenlösung untersucht.

4.5 Anwendung von Glasfasern zur Kraftmessung

4.5.1 Deformation einer einseitig eingespannten Glasfaser infolge einer am Ende angreifenden Kraft

(siehe Abbildung 15 oben)

$df := 125 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Durchmesser einer Glasfaser

$I_{ad} := \frac{\pi \cdot df^4}{64}$ äquatoriales Flächenträgheitsmoment für runden Querschn.

$$lf := \left(\frac{3 \cdot E \cdot I_{ad} \cdot f}{F}\right)^{\frac{1}{3}}$$

$lf = 0.382 \cdot m$ ***notwendige Länge der Glasfaser***

$V := \frac{\pi}{4} \cdot df^2 \cdot lf$ Volumen der Faser

$M := \rho_G \cdot V$ Masse der Faser

$Fg := M \cdot g$ $q := \frac{Fg}{lf}$

$$fg := \frac{q \cdot lf^4}{(8 \cdot E \cdot I_{ad})}$$

$fg = 0.396 \cdot m$ ***Auslenkung des Faserendes infolge des Eigengewichtes***

Die Auflage der Faser verursacht an der Gleitfläche zur Glasplatte eine laterale Haft-Reibkraft F_r von:

$$F_n := \frac{3 \cdot fg \cdot E \cdot I_{ad}}{lf^3}$$

$$F_n := \frac{3 \cdot fg \cdot E \cdot I_{ad}}{lf^3}$$ $F_r := F_n \cdot my0$

$F_r = 3.965 \cdot 10^{-6} \cdot kg \cdot m \cdot s^{-2}$ ***laterale Haft-Reibkraft auf die Faser am Berührungspunkt der Gleitfläche***

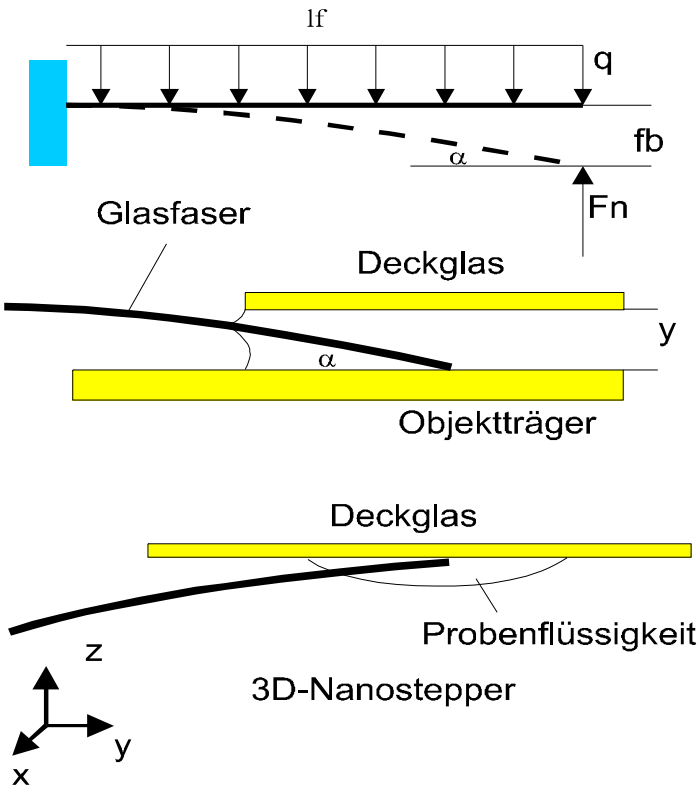
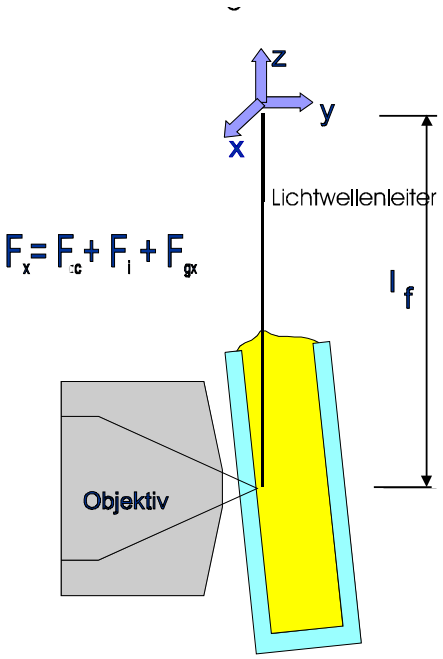


Abbildung 15: Versuchsaufbau 1, Glasfaser waagerecht angeordnet

4.5.2 Versuchsdurchführung

Für einen einseitig eingespannten Monomoden-Lichtwellenleiter von 125µm Durchmesser wurde eine minimale freie Länge von 38cm berechnet.
Versuchsweise wurde eine Faser am Ende auf einen Spitzendurchmesser von ca. 1,5µm konisch abgeätzt. Diese Spitze sollte als Koppelstelle an einen Mikrotubulus dienen. Die Handhabung der Glasfaser vereinfacht sich wesentlich gegenüber Mikrostrukturen, insbesondere wegen der rotationssysmmetrischen Biegeachse. Dennoch traten funktionelle und konstruktive Probleme bezüglich der Versuchsanordnung auf.
Da sich die Faser bei horizontaler Einspannung infolge ihres Eigengewichtes verbiegt, war eine seitliche Einführung der Faser in die Meßprobe unmöglich **(**Abbildung 15 mitte). Die Auflagekraft der Faserspitze auf der Bewegungsebene der Motorproteine hätte eine Reibkraft zur Folge, die um Größenordnungen über dem zu erwartenden Meßwert läge. Um die Auflagekraft zu kompensieren müßte der Einspannwinkel der Faser aus der Senkrechten nach oben verdreht werden. Dann würde jedoch das freie Faserende nicht mehr waagerecht in die Probe ragen. Das läßt der objektivseitige Arbeitsabstand am Mikroskop nicht zu. Die Umkehrung des Präparates mit einem an der Unterseite eines Deckglases aufgebrachten Bewegungsassay´s **(**Abbildung 15 unten**)** schien das Problem zu lösen. Aber die Zuführung der Faser von unten blieb erfolglos. Bei einer günstigen Position der Faserspitze zur Bewegungsebene der Mikrotubuli lag der Befestigungspunkt der Faser unterhalb des Massenschwerpunktes der Gesamtfaser, so daß der statisch instabile Zustand keine exakte Positionierung und Ankopplung erlaubte.



Die einzig mögliche Anordnung für die kontrollierte, sensible Einkopplung einer derartig langen Glasfaser in die Bewegungsebene der Nanomotoren stellt ein senkrechter Aufbau dar
(siehe Abbildung 16). Die Realisierung des Versuchsaufbaus führte jedoch zu erheblichen Schwierigkeiten. Das Mikroskop wurde liegend auf einem schwingungsgedämpften Tisch montiert. Auf derselben Tischplatte wurde ein Stativ befestigt, an dem ca. 30cm über dem Mikroskop ein Piezopositioniersystem befestigt wurde. An diesem x-y-z-Antrieb war die Glasfaser aufgehängt.
Trotz der Nutzung eines schwingungsdämpfenden Tisches und die Dämpfung der Faserbewegung in der Flüssigkeit der Probenkammer wirkten sich geringste äußere Schwingungen als extreme Amplituden an der Faserspitze aus.

Abbildung 16: Versuchsaufbau 2, senkrecht

Da die Stativkonstruktion zwischen dem Präparat und der Aufhängung der Faser am oberen Ende nicht ausreichend starr ausgelegt werden konnte, waren Positionierarbeiten der Faserspitze im Mikrometerbereich nicht ausführbar. Jede Relativbewegung zwischen Sensorspitze und Nano-Bewegungsassay wurde von einer kaum abklingenden Schwingung bis zu 15µm Amplitude überlagert.

Die Untersuchungen zur Quantifizierung der Bewegungskraft von Mikrotubuli mit Hilfe von mechanischen Methoden zeigten die Grenzen dieser klassischen Meßverfahren auf. Besonders unter der Notwendigkeit der aufwendigen mikroskopischen Beobachtung des Meßwertes wurden die technischen Möglichkeiten stark eingeschränkt. Auch das direkte Antasten der Sensorstrukturen an Makromoleküle stellte sich als problematisch, aber nicht unrealistisch heraus. Weitere Arbeiten auf diesem Gebiet gelten der Findung geeigneter Meßprinzipien sowie deren experimenteller Ausführung.
Das Grundprinzip des gezielten Anlegens einer Gegenkraft an einen Mikrotubulus soll auch bei weiteren Kraftmeßmethoden beibehalten werden.

4.6 Magnetische Kraftmessung

Im Unterschied zum mechanischen Prinzip wird nun die Gegenkraft berührungslos über ein Magnetfeld auf Strukturproteine einwirken. Hierzu sind 2 verschiedene Modelle erarbeitet worden. Die Meßverfahren beruhen darauf, daß Substanzen unterschiedlicher magnetischer Eigenschaften innerhalb von inhomogenen Magnetfeldern eine Änderung der potentiellen Energie verursachen. [3]

$$\Delta W = (\mu_1 - \mu_0) \bullet \frac{V}{2} \bullet H^2 - (\mu_2 - \mu_0) \bullet \frac{V}{2} \bullet H^2$$

$$\Delta W = -(\mu_2 - \mu_1) \bullet \mu_0 \bullet \frac{V}{2} \bullet H^2$$

μ_0	:	magnet. Feldkonstante,
$\mu_1=1+\kappa_1$	:	magnet. Permeabilität des Feldraumes,
$\mu_2=1+\kappa_1$	:	magnet. Permeabilität der Substanz im Feldraum,
κ	:	magnet. Suszeptibilität,
H	:	magnet. Feldstärke,
V	:	Volumen der Substanz

Infolge der Energieänderung entsteht eine auf die Substanz wirkende Kraft.

$$F_i = (\kappa_2 - \kappa_1)(H_x \frac{dH_x}{di} + H_y \frac{dH_y}{di} + H_z \frac{dH_z}{di}) \bullet \mu_0 V$$

Für k**appa2 - kappa1 > 0** (para- und ferromagnetische Stoffe) wird der Stoff in Richtung zunehmender Feldstärke gezogen,
für k**appa2 - kappa1 < 0** (diamagnetische Stoffe) wird der Stoff aus dem Feld herausgedrängt.

Voraussetzung für die Anwendung der Gesetzmäßigkeit ist also das Vorhandensein eines bekannten magnetischen Stoffes in einem bekannten inhomogenen Magnetfeld.[*1])
Es ist nachgewiesen, daß Partikel von einigen Mikrometern Durchmesser ("beads" [*2]) an die Oberfläche von Mikrotubuli gebunden werden können. Dies kann auf 2 Arten geschehen.

1. Die "beads" werden fest gebunden, d.h. passiv vom Mikrotubulus als Last getragen und mitbewegt.
2. Die "beads" lassen sich selbst mit Kinesin beschichten und bewegen sich entlang des auf dem Support fixierten Mikrotubulus.

Das Ziel ist es, in einem Bewegungsassay ein definiertes Magnetfeld aufzubauen und mit "beads" beladene Mikrotubuli durch den Feldraum zu schicken. Die auf die "beads" und damit

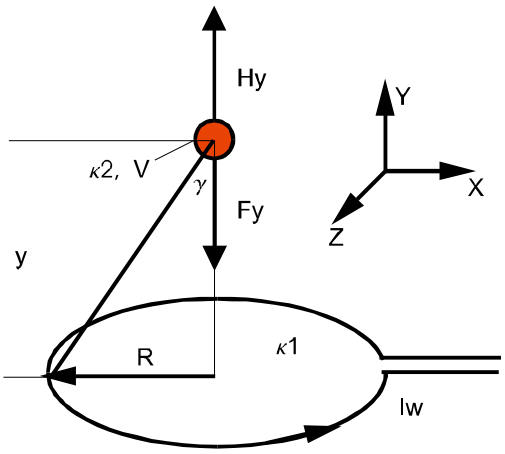
auf die Motorproteine ausgeübte Kraft ist proportional zur Feldstärke und kann bei entsprechenden geometrischen Anordnungen einfach variiert werden. 2 Ausführungsformen geeigneter Anordnungen werden im Folgenden beschrieben. Die Veränderung des Bewegungsverhaltens der Proteine soll mit dem Kontrastmikroskop ausgewertet werden. Randbedingung ist demnach auch hier ein planares Assay mit begrenztem Arbeitsraum.

*1) **Magnetísmus:** [griech.], Zustandsänderung eines Stoffes, auf den ein Magnetfeld einwirkt. Nach ihrem Verhalten im äußeren Magnetfeld unterscheidet man **diamagnet., paramagnet. und ferromagnet.** Stoffe. *Dia-M.* tritt bei Stoffen auf, deren Atome bzw. Moleküle kein permanentes magnet. Moment aufweisen. Im äußeren Feld wird in ihnen ein Gegenfeld induziert; Der *Para-M.* beruht auf permanenten atomaren bzw. molekularen Momenten, die sich parallel zur Richtung des äußeren Magnetfeldes einstellen. Bei *ferromagnet.* Stoffen tritt der sehr viel stärkere Ferromagnetismus auf.
*2) **Magnetic bead**: [engl.], Kügelchen (2µm Durchmesser) aus Magnetit (Eisenoxid Fe_3O_4), gebunden in eine organische Matrix. Eisenoxid zählt zu den *ferrimagnetischen* Stoffen, einem Spezialfall des *Ferro-M.*, der sich durch einen kleineren M. auszeichnet. [3]

4.6.1 Anordnung mit Leiterschleife

4.6.1.1 Grundlagen

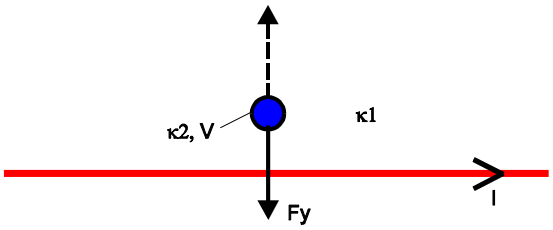
In Abbildung 17 und Abbildung 18 ist der Prinzipaufbau eines durch einen stromdurchflossenen Leiter erzeugten Magnetfeldes dargestellt.
Wendet man die Energie-Beziehungen darauf an, so erhält man Dimensionierungsgleichungen für die Geometrie und die elektrischen Parameter der Spule. Die Kraft auf ein "bead" wirkt entlang der y-Achse der Leiterschleife bzw. radial zum Leiterstück.



$$Hy = \frac{wI}{2R}\sin^3(\gamma)$$

$$Fy = (\kappa_1 - \kappa_2)Hy\frac{dHy}{dy}\mu_0 V$$

Abbildung 17: magnetische Krafterzeugung mittels Leiterschleife



$$Hy = \frac{I}{2\pi y}$$

$$Fy = (\kappa_1 - \kappa_2)Hy\frac{dHy}{dy}\mu_0 V$$

Abbildung 18: magnetische Krafterzeugung mittels geradlinigen Leiter

Geht man von einem geraden Leiterstück aus, kann man die nachfolgende magnetische Feldstärke in einem Abstand y des „beads“ vom Leiter berechnen. Bei dem geraden Leiterstück handelt es sich um die einfachste Bauform zur Erzeugung eines inhomogenen Magnetfeldes, wobei sich die Einbindung des Leiters in die Gleitebene der Motorproteine sehr einfach gestaltet.

$\text{münull} := 1.2566 \cdot 10^{-6} \cdot \frac{V \cdot s}{A \cdot m}$ magn. Feldkonstante

$\text{mürel1} := 1$ rel. Permeabilität der Lösung

$\text{mürel2} := 2$ rel. Permeabilität des Magnetbead

$\text{kappa1} := \text{mürel1} - 1$ $\text{kappa2} := \text{mürel2} - 1$ magn. Suszeptibilitäten

$I := 0 \cdot A, 1 \cdot A .. 10 \cdot A$ Strom

$rb := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Radius des Magnetbeads

$Vol := \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot rb^3$ Volumen des bead´s

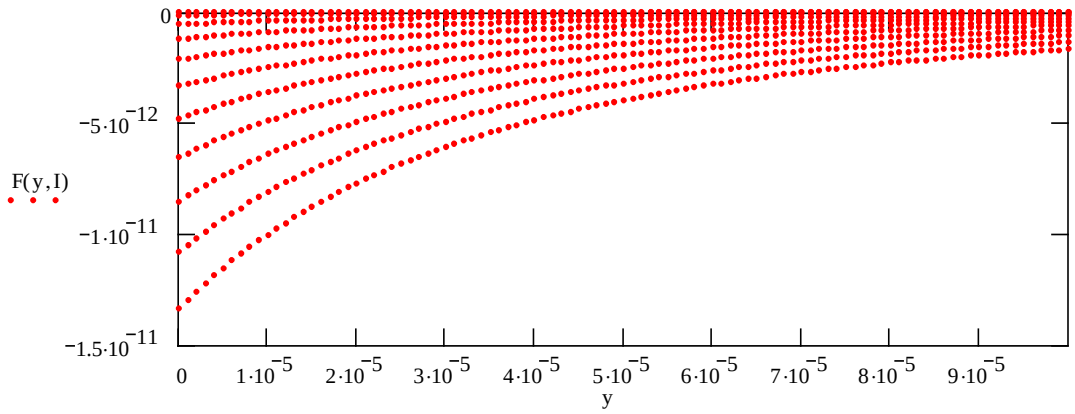
$r := 0.1 \cdot mm$ Radius des Leiters

$y := 0 \cdot mm, 0.001 \cdot mm .. 0.1 \cdot mm$ Abstand des beads vom Leiterrand

$Y(y) := y + r$ Abstand von Leitermitte

$H(y, I) := \frac{I}{2 \cdot \pi \cdot Y(y)}$ magn. Feldstärke um einen stromdurchflossenen Le

$F(y, I) := (\text{kappa2} - \text{kappa1}) \cdot \left(H(y, I) \cdot \frac{d}{dy} H(y, I) \right) \cdot \text{münull} \cdot Vol$



Aus der Funktion F(y,I) erkennt man, daß für eine Kraft größer 5 pN Ströme zwischen 7A und 10A notwendig sind.

Will man die Kraftwirkung des Magnetfeldes auf „bead“-beladene Mikrotubuli untersuchen, muß das Leiterstück unmittelbar in das Bewegungsassay eingebracht werden.
Ein solches Leiterstück von 2cm Länge und einem Durchmesser von 0,2mm erreicht bei einem Strom von 7A eine Temperatur von ca. 450K (siehe Diagramm T3(I)).

$l := 2 \cdot 10^{-2} \cdot m$ — Länge des Leiters

$l_{th} := \frac{l}{2}$ — Schnittbetrachtung

$T1 := 293 \cdot K$ — Umgebungstemperatur

$T2 := 310 \cdot K$ — Übertemperatur des Leites

$\rho_{Cu} := 0.0172 \cdot \frac{V}{A} \cdot \frac{mm^2}{m}$ — spez. elektr. Wid. des Leiters

$\lambda_{Cu} := 383.8 \cdot \frac{W}{m \cdot K}$ — Wärmeleitfähigkeit des Leiters

$QS := \pi \cdot r^2$ — Querschitt des Leiters

$R_{th} := \frac{T2 - T1}{P(I)}$ $\quad R_{th} := \frac{l_{th}}{\lambda_{Cu} \cdot QS}$ — Thermischer Widerst. des Leiters

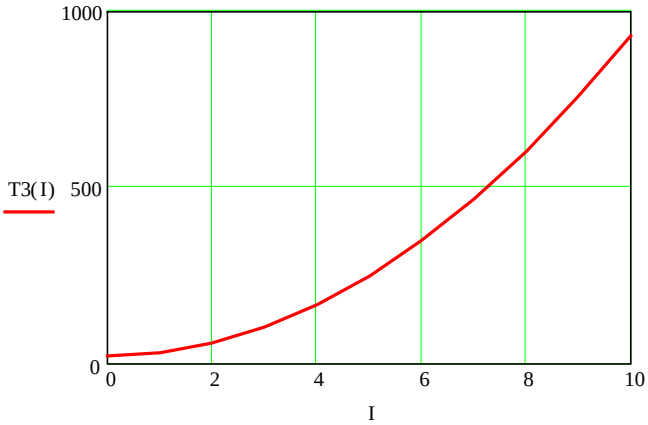
$R_{el} := \rho_{Cu} \cdot \frac{l}{QS}$ — elektrischer Widerstand des Leiters

$P(I) := R_{el} \cdot I^2$ — Verlustleistung

$T2(I) := R_{th} \cdot P(I) + T1$ — Temperatur des Leiters

$T3(I) := T2(I) - 273 \cdot K$

I = A	T3(I) = K	P(I) = $kg \cdot m^2 \cdot s^{-3}$
0	20	0
1	29.081	0.011
2	56.326	0.044
3	101.733	0.099
4	165.303	0.175
5	247.035	0.274
6	346.931	0.394
7	464.99	0.537
8	601.211	0.701
9	755.595	0.887



Da es sich im Experiment um lebende Strukturen handelt ist dieser Weg nicht gangbar.
Für eine reale Anordnung ist es notwendig die Leiterschleife in Form einer Spule zu realisieren, um durch eine Vielzahl von Windungen die thermische Belastung bei gleicher Magnetkraft zu minimieren. Da die Spule aus Gründen des begrenzten Bauraumes in relativ großem Abstand vom Meßobjekt zu positionieren ist, kann ein thermischer Einfluß prinzipiell vernachlässigt werden. Durch die räumliche Ausdehnung einer Spule geht deren Länge in die Rechnung ein.

Spulendimensionierung (allgemein)

$münull := 1.2566 \cdot 10^{-6} \cdot \frac{V \cdot s}{A \cdot m}$ **magn. Feldkonstante**

$mürel1 := 1$ **rel. Permeabilität der Lösung**

$mürel2 := 100$ **rel. Permeabilität des Magnetbead (Annahme)**

$Rv := 20 \cdot mm, 25 \cdot mm .. 30 \cdot mm$ **Radius des Ringleiters**

$Lv := 0 \cdot mm, 10 \cdot mm .. 20 \cdot mm$ **Länge der Ringspule**

$y := 0.1 \cdot mm, 0.5 \cdot mm .. 25 \cdot mm$ **Arbeitsabstand**

$wl := 1000 \cdot A$ **Ampere-Windungszahl (Annahme)**

$r := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ **Radius des Magnetbeads**

$\rho_{fl} := 1000 \cdot \frac{kg}{m^3}$ **Dichte der Lösung**

$\rho_{org} := 1400 \cdot \frac{kg}{m^3}$ **Dichte des org. Materials (80Vol%)**

$\rho_{mag} := 5100 \cdot \frac{kg}{m^3}$ **Dichte des magnet. Materials (20Vol%)**

$\rho_b := 0.2 \cdot \rho_{mag} + 0.8 \cdot \rho_{org}$ $\rho_b = 2.14 \cdot 10^3 \ kg \cdot m^{-3}$

$Vol := \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3$ **Volumen des bead´s**

$Masse := \rho_{mag} \cdot 0.2 \cdot Vol + \rho_{org} \cdot 0.8 \cdot Vol$ **Gesamtmasse des bead´s**

$Masse = 8.964 \cdot 10^{-15} \ kg$

$kappa1 := mürel1 - 1$ $kappa2 := mürel2 - 1$ **magn. Suszeptibilitäten**

$\gamma(R, y) := atan\left(\frac{R}{y}\right)$

$H0(R, L, y) := \frac{wl}{2 \cdot R} \cdot \sin(\gamma(R, y))^3$ **Feldstärke über einem Ringleiter**

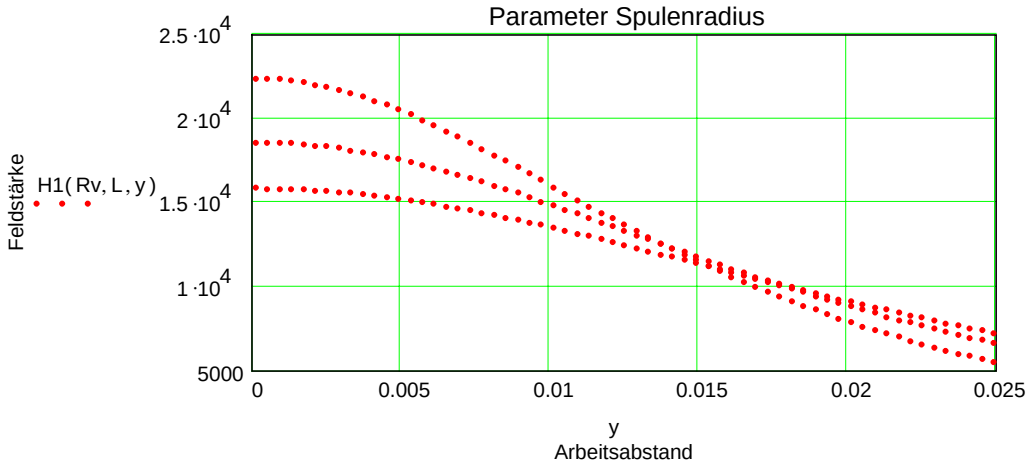
$H1(Rv, L, y) := \frac{wl}{\sqrt{4 \cdot Rv^2 + L^2}} \cdot \sin(\gamma(Rv, y))^3$ **Feldstärke f(R) über einer Ringspule**

$H2(R, Lv, y) := \frac{wl}{\sqrt{4 \cdot R^2 + Lv^2}} \cdot \sin(\gamma(R, y))^3$ **Feldstärke f(L) über einer Ringspule**

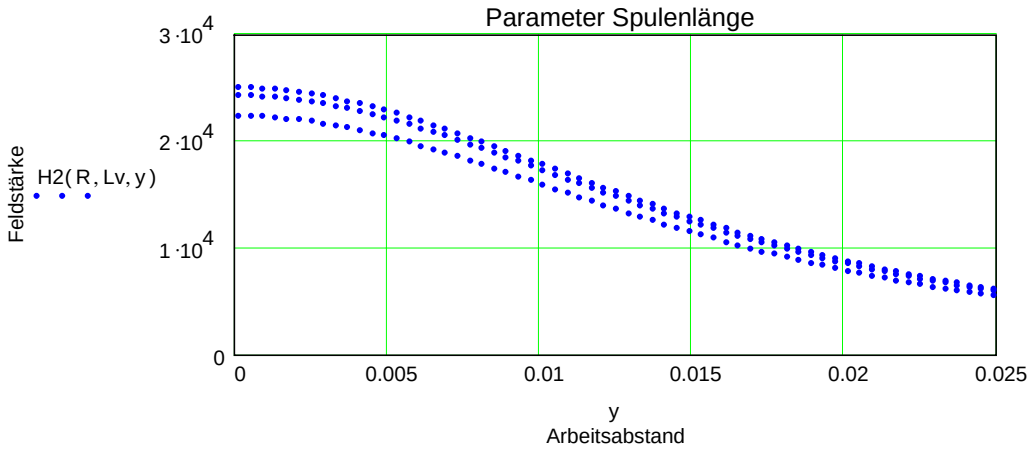
$F1(Rv, L, y) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left(H1(Rv, L, y) \cdot \frac{d}{dy} H1(Rv, L, y)\right) \cdot münull \, Vol$ **Kraft über Spule f(R)**

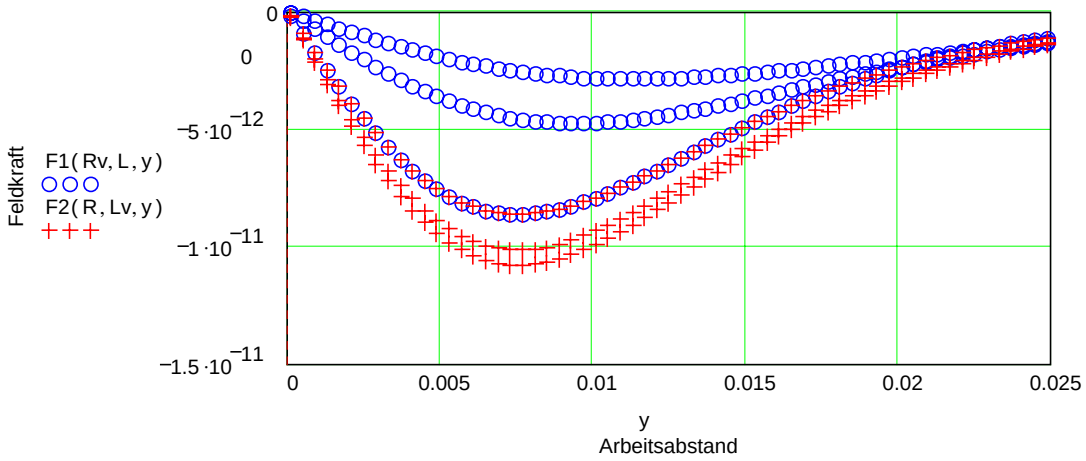
$F2(R, Lv, y) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left(H2(R, Lv, y) \cdot \frac{d}{dy} H2(R, Lv, y)\right) \cdot münull \, Vol$ **Kraft über Spule f(L)**

$L := 20 \cdot mm$ **konstante Länge der Ringspule**



$R := 20 \cdot mm$ **konstanter Radius der Ringspule**





$y := 7.5 \cdot mm$ ***optimaler Abstand für R=20mm und L=20mm***

Notwendige Permeabilität für optimales y

$R := 20 \cdot mm$ **festgelegter Spulenradius**

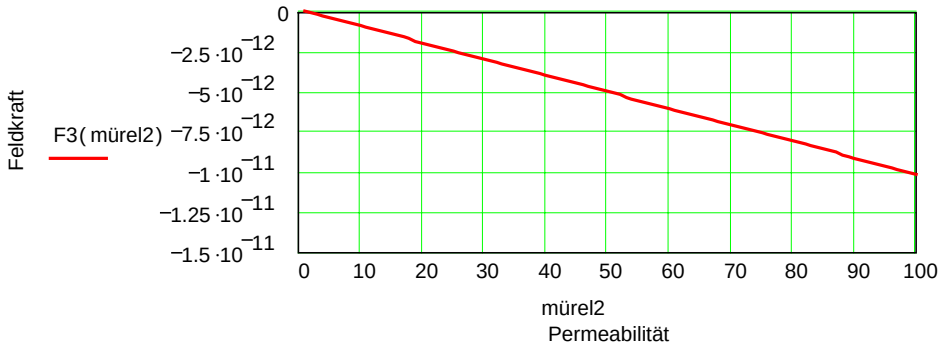
$L := 10 \cdot mm$ **festgelegte Spulenlänge**

$mürel2 := 1, 2 .. 100$

$kappa2(mürel2) := mürel2 - 1$

$$H3(R, L, y) := \frac{wl}{\sqrt{4 \cdot R^2 + L^2}} \cdot \sin(\gamma(R, y))^3$$

$$F3(mürel2) := (kappa2(mürel2) - kappa1) \cdot \left(H3(R, L, y) \cdot \frac{d}{dy} H3(R, L, y) \right) \cdot münull \cdot Vol$$



$mürel2 := 50$ ***minimal notwendige Permeabilität des Magnetbead an der Position y_{opt} zur Erzeugung einer Kraft von 5 pN***

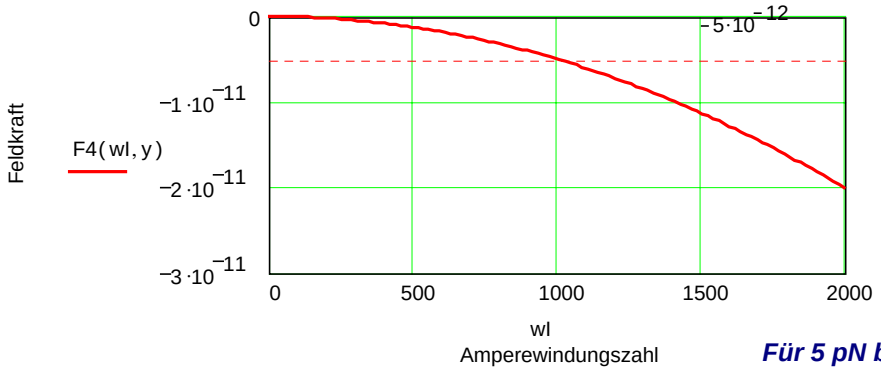
Abhängigkeit der Kraft von Stromstärke (bei optimalem Abstand y)

$wl := 1 \cdot A, 20 \cdot A .. 2000 \cdot A$ **Amperewindungszahl**

$kappa2 := mürel2 - 1$

$$H4(wl, y) := \frac{wl}{\sqrt{4 \cdot R^2 + L^2}} \cdot \sin(\gamma(R, y))^3$$ **Feldstärke über einer Ringspule**

$$F4(wl, y) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left(H4(wl, y) \cdot \frac{d}{dy} H4(wl, y) \right) \cdot münull \cdot Vol$$ **Magnetkraft**



Für 5 pN beträgt wl_{min} =1000A

Betrachtet man die Feldkraft $F_y(R,L,y)$ in Abhängigkeit des Arbeitsabstandes y im Diagramm F1, F2=f(y), erkennt man eine maximale Kraft für einen bestimmten Arbeitsabstand y, der ein Optimum für den jeweiligen Spulenradius darstellt.

Ausgangspunkt ist ebenfalls die Blockierkraft eines Mikrotubulus, die mit 5pN bis 100pN angenommen wird. Will man diese Kraft auf ein Magnetbead ausüben, so muß dessen relative Permeabilität einen bestimmten Mindestwert betragen. (siehe Diagramm: Feldkraft F3=f(mürel2)). Durch die magnetische Eigenschaften des Beads ist das mürel vorgegeben, so daß der Spulenstrom als einziger variabler Parameter die Kraft bestimmt. (siehe Diagramm: Feldkraft F4=f(Amperewindungszahl (wI))

4.6.1.2 Versuchsdurchführung

Da die Suszeptibilität von kommerziellen magnetischen "beads" unbekannt ist bzw. vom Hersteller nicht angegeben wird, ist eine Kalibrierung der Vorrichtung erforderlich. Die magnetischen Eigenschaften der verwendeten Magnetbeads müssen durch verschiedene Versuchsschritte ermittelt werden. (Versuchsschritte 1 bis 3)
Die spezifischen Suszeptibilitäten können z.B. mit Hilfe der Schwerkraft bestimmt werden. Dazu muß die Leiterschleife in horizontaler Lage angeordnet und das "bead" in Schwebe gebracht werden. Über die zugehörige Stromstärke und das Eigengewicht kann kappa berechnet werden. (siehe Schwebeversuch, Abbildung 20) Eine andere Möglichkeit zur Bestimmung der Suszeptibilität besteht in der Bewegung des „beads“ entgegen der Schwerkraft in einer Flüssigkeit mit definierter Viskosität. (siehe Hebeversuch) Unter Zuhilfenahme der gemessenen Steiggeschwindigkeit und der Stromstärke kann Kappa ebenfalls ermittelt werden. Danach wird die Leiterschleife senkrecht zur Bewegungsebene der Motorproteine gestellt, so daß sich die „bead“-beladen Mikrotubuli etwa in der Symmetrieachse der Schleife befinden. Dabei ist auf Grund des dicht über der Probe liegenden Mikroskopobjektives möglichst ein optimaler Arbeitsabstand vom "bead" bis zur Leiterebene bzw. der Abstand y der Leiterschleife von der Position der zu messenden Motorproteine einzuhalten (siehe Zugversuch, Abbildung 21).

Versuchsschritt 1:

Voraussetzung für die Messung mittels Schwerkraft ist die Masse der Magnetbeads, welche sich aus der Dichte errechnen läßt.
Da die Magnetbeads aus 20% Magnetit und 80% organischer Hülle bestehen, ergibt sich eine resultierende Dichte von 2140 kg/m^3 laut Herstellerangaben.

Zur Bestimmung der Dichte der im konkreten Fall verwendeten Magnetbeads wurde die Sinkgeschwindigkeit einzelner Magnetbeads imWasser gemessen und die Dichte aus weiteren bekannten Parametern berechnet. (siehe Meßaufbau in Abbildung 19)

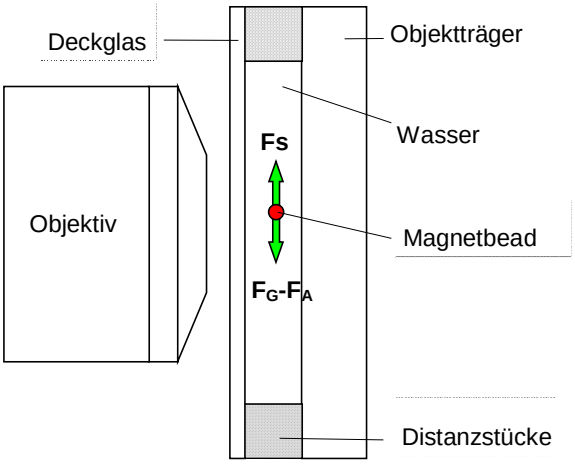


Abbildung 19: Versuchaufbau zur Bestimmung der Bead-Dichte

$r := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Radius des Magnetbeads

$\rho_{fl} := 1000 \cdot \frac{kg}{m^3}$ Dichte der Lösung

$\rho_{org} := 1400 \cdot \frac{kg}{m^3}$ Dichte des org. Materials(lt. Hersteller) (80Vol%)

$\rho_{mag} := 5100 \cdot \frac{kg}{m^3}$ Dichte des magnet. Materials(lt. Materialangabe für Magnetit) (20Vol%)

$Vol := \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3$ Volumen des bead´s

$\rho_b := \rho_{mag} \cdot 0.2 + \rho_{org} \cdot 0.8$ Gesamtdichte des bead´s $\rho_b = 2.14 \cdot 10^3\ kg \cdot m^{-3}$

$Masse := \rho_b \cdot Vol$ $Masse = 8.964 \cdot 10^{-15}\ kg$

$\eta := 1 \cdot 10^{-3} \cdot Pa \cdot s$ Viskosität von Wasser

$v := 0.001 \cdot \frac{mm}{s}$ angenommene Fallgeschwindigkeit des bead´s

---

Messung

$Sink := 1 \cdot mm$ definierte Sinkstrecke

$Zeit := 48 \cdot min + 30 \cdot s$ mittlere gemessene Sinkzeit

$v := \frac{Sink}{Zeit}$ ***mittlere gemessene Sink-Geschwindigkeit des bead´s*** $v = 3.436 \cdot 10^{-7}\ m \cdot s^{-1}$

$D := 100 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Kanalhöhe

$d := 50 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Abstand des bead´s von der Kanalwand

$$K := \left[1 + \frac{9 \cdot r}{16 \cdot \left(d - \frac{d^2}{D} \right)} \right]$$

Korrekturfaktor für Bewegungen nahe der Kanalwand

$K = 1.022$

$Fs := 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v \cdot K$

$F_G - F_A - Fs = 0$ Kräftegleichgewicht

$(\rho_b - \rho_{fl}) \cdot Vol \cdot g = Fs$

$$\rho_b := \frac{-(-Vol \cdot g \cdot \rho_{fl} - Fs)}{(Vol \cdot g)}$$

Dichte des Magnetbead´s $\rho_b = 1.161 \cdot 10^3\ kg \cdot m^{-3}$

Versuchsschritt 2:

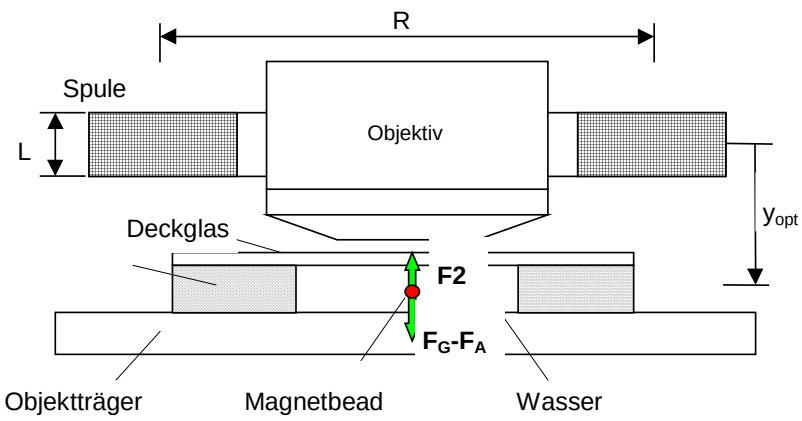


Abbildung 20: Versuchsaufbau zur Bestimmung der Bead-Suszeptibilität

Spezielle Werte für verwendete Spule (konkret für ausgewählte Spule)

$w := 155$ Windungszahl

$Di := 2.5 \cdot mm$ Innendurchmesser der Spule

$Da := 8 \cdot mm$ Außendurchmesser der Spule

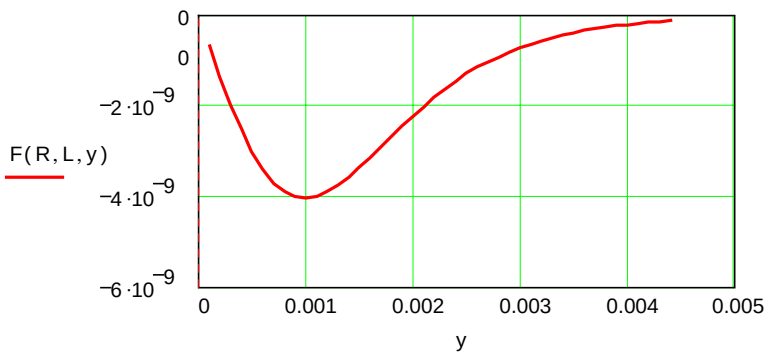
$R := \frac{Di + Da}{4}$ Mittlerer Radius $R = 2.625 \cdot 10^{-3}\ m$

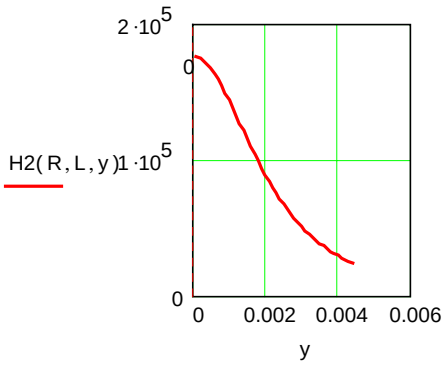
$L := 2.2 \cdot mm$ Länge der Spule

$y := 0.1 \cdot mm, 0.2 \cdot mm .. 2 \cdot L$

$H2(R, L, y) := \frac{wl}{\sqrt{4 \cdot R^2 + L^2}} \cdot \sin(\gamma(R, y))^3$ Feldstärke über einer Ringspule

$F(R, L, y) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left(H2(R, L, y) \cdot \frac{d}{dy} H2(R, L, y) \right) \cdot münullVol$





$y := 1.0 \cdot mm$ **optimaler Arbeitsabstand von der Leiterebene für Ringradius 2,6mm**

$y := 1.5 \cdot mm$ realer gemessener Abstand y

Schwebeversuch:

$\rho_b := 1160 \cdot \frac{kg}{m^3}$ gemessene Dichte aus Versuchsschritt 1 (Fallversuch)

$I := 80 \cdot mA, 85 \cdot mA .. 100 \cdot mA$ gemessener Strom

$wl(I) := w \cdot I$

$Masse := \rho_b \cdot Vol$

$$H3(I, L, y) := \frac{wl(I)}{\sqrt{4 \cdot R^2 + L^2}} \cdot \sin(\gamma(R, y))^3$$

$F_A := \rho_{fl} \cdot Vol \cdot g$ $F_A = 4.108 \cdot 10^{-14}\ kg \cdot m \cdot s^{-2}$

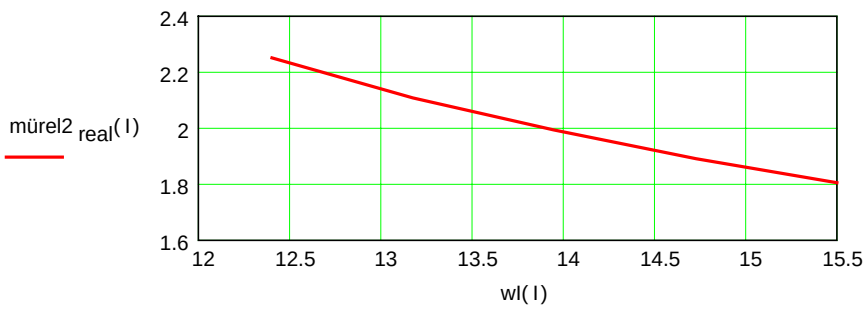
$F_G := Masse \cdot g$ $F_G = 4.765 \cdot 10^{-14}\ kg \cdot m \cdot s^{-2}$

$F_G - F_A = 6.572 \cdot 10^{-15}\ kg \cdot m \cdot s^{-2}$

$$\left(kappa2_{real} - kappa1\right) \cdot \left(H3(I, L, y) \cdot \frac{d}{dy} H3(I, L, y)\right) \cdot münull \cdot Vol + F_G - F_A = 0$$

$$kappa2_{real}(I) := kappa1 + \frac{-F_G + F_A}{H3(I, L, y) \cdot \frac{d}{dy} H3(I, L, y) \cdot münull \cdot Vol}$$

$mürel2_{real}(I) := kappa2_{real}(I) + 1$



$mürel2_{real}(I) =$

2.248
2.105
1.986
1.885

Hebeversuch:

$\eta := 1\cdot 10^{-3}\cdot Pa\cdot s$ Viskosität von Wasser

$I := 400\cdot mA$ eingeprägter Strom

$wI := w\cdot I$

$Heb := 350\cdot 10^{-6}\cdot m$

$Zeit := 4\cdot min, 5\cdot min .. 12\cdot min$ gemessene Steigzeit

$v(Zeit) := \frac{Heb}{Zeit\cdot 60}$ ***gemessene Steig-Geschwindigkeit des bead´s***

$v(Zeit) =$ $m\cdot s^{-1}$

$.431\cdot 10^{-8}$
$.944\cdot 10^{-8}$
$1.62\cdot 10^{-8}$
$.389\cdot 10^{-8}$
$.215\cdot 10^{-8}$
$1.08\cdot 10^{-8}$
$.722\cdot 10^{-9}$
$.838\cdot 10^{-9}$
$.102\cdot 10^{-9}$

$$H2(wI,y) := \frac{wI}{\sqrt{4\cdot R^2 + L^2}}\cdot \sin(\gamma(R,y))^3$$

$F_G - F_A = 6.572\cdot 10^{-15}\ kg\cdot m\cdot s^{-2}$

$Fs(Zeit) := 6\cdot\pi\cdot\eta\cdot r\cdot v(Zeit)$

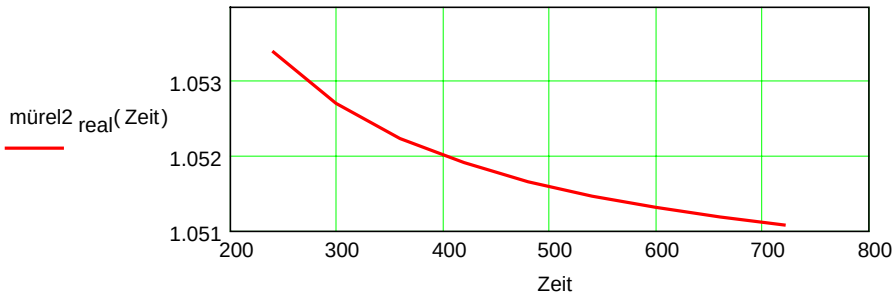
$$\left(kappa2_{real} - kappa1\right)\cdot\left(H2(wI,y)\cdot\frac{d}{dy}H2(wI,y)\right)\cdot münullVol + F_G - F_A + Fs(Zeit) = 0$$

$$kappa2_{real}(Zeit) := kappa1 + \frac{-F_G + F_A - Fs(Zeit)}{H2(wI,y)\cdot\frac{d}{dy}H2(wI,y)\cdot münullVol}$$

$mürel2_{real}(Zeit) := kappa2_{real}(Zeit) + 1$

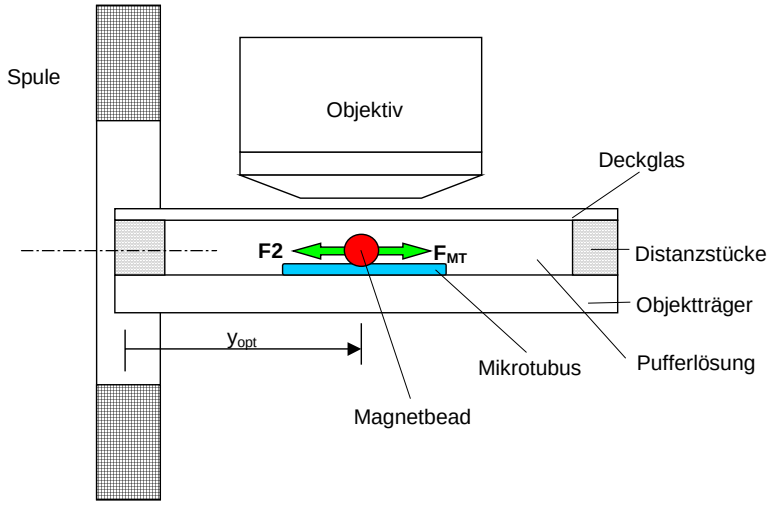
$mürel2_{real}(Zeit) =$

1.053
1.053
1.052
1.052
1.052
1.051
1.051
1.051
1.051



Zwischen den Ergebnissen von Hebe- und Schwebeversuch existieren Abweichungen. Diese wurden durch Meßfehler und starke Streuung der magnetischen Eigenschaften von verschiedenen „beads“ verursacht.
Für alle weiteren Betrachtungen wird für die Magnetbeads ein Durchmesser von 2µm und eine relative Permeabilität von mürel2=2 und vereinbart.

Versuchsschritt 3:



Mit Hilfe der in den Versuchsschritten 1 und 2 ermittelten Parameter ist es möglich die laterale Bewegungskraft von „bead"-beladenen Mikrotubuli zu messen.
Zu diesem Zweck wird der Aufbau verwendet, wie er in Abbildung 21 dargestellt ist.

Abbildung 21: Versuchsaufbau zur Messung der Bewegungskraft

Zugversuch:

$I := 0.5 \cdot A$ — maximaler elektrischer Strom

$w := 2540$ $\quad wI := w \cdot I$ — Windungszahl

$Di := 10 \cdot mm$ — Innendurchmesser der Spule

$Da := 23 \cdot mm$ — Außendurchmesser der Spule

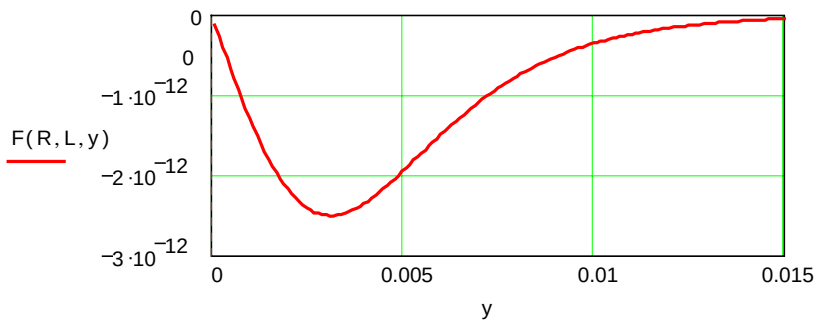
$R := \frac{Di + Da}{4}$ — Mittlerer Radius $\quad R = 8.25 \cdot 10^{-3}\ m$

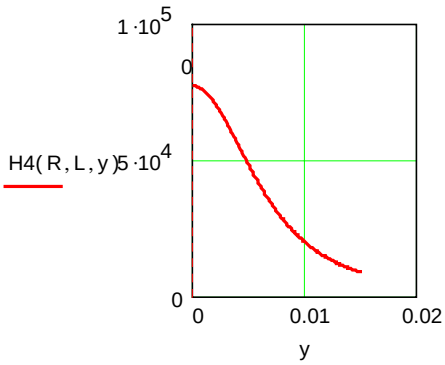
$L := 0 \cdot mm$ — virtuelle Länge der Spule (auf Ende des Kerns konzentriert)

$y := 0.1 \cdot mm, 0.2 \cdot mm .. 15 \cdot mm$

$H4(R,L,y) := \frac{wI}{\sqrt{4 \cdot R^2 + L^2}} \cdot \sin(\gamma(R,y))^3$ — Feldstärke über einer Ringspule

$F(R,L,y) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left(H4(R,L,y) \cdot \frac{d}{dy} H4(R,L,y) \right) \cdot münullVol$





$y := 3.1 \cdot mm$ — **optimaler Arbeitsabstand vom Kernende für Kernradius 10mm**

$y := 6 \cdot mm$ realer gemessener Abstand y

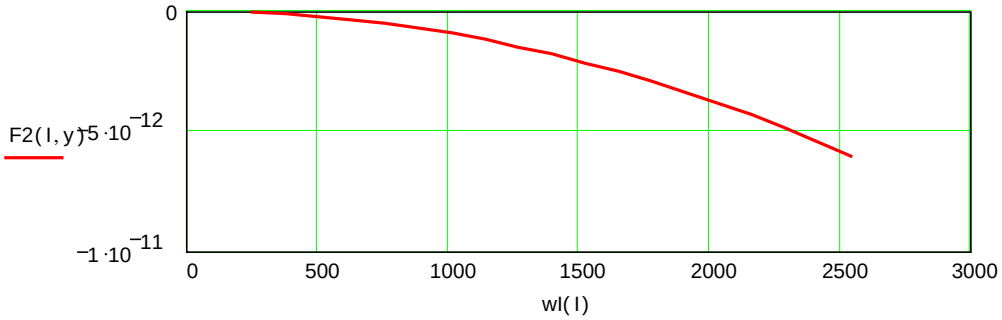
$I := 0.1 \cdot A, 0.15 \cdot A .. 1 \cdot A$ realer Strom

$wI(I) := w \cdot I$

$kappa2 := mürel2 - 1$

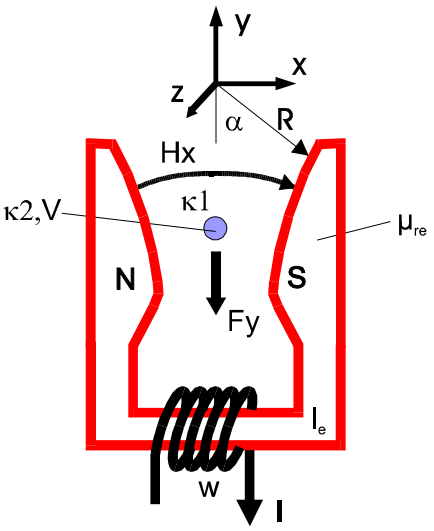
$$H5(I,y) := \frac{wI(I)}{\sqrt{4 \cdot R^2 + L^2}} \cdot \sin(\gamma(R,y))^3$$ Feldstärke über einer Ringspule

$$F2(I,y) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left(H5(I,y) \cdot \frac{d}{dy} H5(I,y) \right) \cdot münullVol$$ Magnetkraft



Zur Messung wurde eine Spule seitlich am Mikroskop angebracht. Wird diese als Luftspule ausgeführt, mißt der optimale Arbeitsabstand bis zur Spulenmitte (L/2).
Führt man jedoch die Spule mit einem Eisenkern aus, kann y-opt vom Ende des Eisenkerns gemessen werden. Dieser Fall (L=0) wurde für die Berechnung angenommen.
Der Vorteil besteht darin, daß die Spule bei gleichem y-opt in einer größeren Entfernung zum Meßobjekt angeordnet werden kann und somit der Meßaufbau mechanisch realisierbar wurde.
Die erreichbare Blockierkraft für einen Mikrotubulus ist aus der Funktion F2=f(wI) ersichtlich.

4.6.2 Anordnung mit Eisenkreis



Ein anderes Modell sieht die Bündelung und Leitung des vom Elektromagneten erzeugten magnetischen Flusses an den Meßort vor. Dies geschieht vorzugsweise mittels entsprechend dimensionierten Weicheisenkreisen. Mit dem in
Abbildung 22 gezeigten Feldraum innerhalb zweier Polschuhe wird dort die Felstärke sehr groß. Sie verhält sich indirekt proportional zum Spalt zwischen den Polschuhen. Der Vorteil des Aufbaus besteht in der Integrierbarkeit eines sehr flachen Eisenkreises direkt in die Bewegungsebene der Mikrotubuli. Außerdem kann die Spaltbreite sehr klein gestaltet werden, wodurch sich die Kraftwirkung im Vergleich zur Spulenanordnung stark erhöht.

Abbildung 22: Magneteisenkreis

$$Hx = wI \frac{\mu_{re}}{\mu_{r1} l_e + \mu_{re} l_x} \qquad Fy = (\kappa_1 - \kappa_2) Hx \frac{dHx}{dy} \mu_0 V$$

4.6.2.1 Grundlagen

Für ein inhomogenes Magnetfeld muß der Spalt eine konische Form besitzen. Die nachfolgende Dimensionierungsrechnung zeigt die Abhängigkeiten der Feldkraft von den geometrischen Größen minimale Spaltbreite x0, Konuswinkel α, und Arbeitsabstand y sowie der Amperewindungszahl wI.
Um ein Kraftmaximum zu erhalten ist für größere Konuswinkel die Anfangsspaltbreite zu vergrößern. Gleichermaßen ist der Abstand y des Meßortes (von der min. Spaltbreite aus gemessen) zu verkleinern. Insgesamt liegen die zu messenden Blockierkräfte bis zu 10.000 mal höher als bei der Verwendung vergleichbarer Spulenprinzipien. Dabei bleibt die Sättigung des Magnetmaterials der „beads“ und des magn. Flußleiters unberücksichtigt.

$münull := 1.2566 \cdot 10^{-6} \cdot \frac{V \cdot s}{A \cdot m}$ magn. Feldkonstante

$mürel1 := 1$ rel. Permeabilität der Lösung

$mürel2 := 2$ rel. Permeabilität des Magnetbead

$mürel_e := 4000$ rel. Permeabilität von Weicheisen

$le := 50 \cdot mm$ Länge des Eisenkreises

$rb := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ Radius des Magnetbeads

$Vol := \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot rb^3$ Volumen des bead´s

$kappa1 := mürel1 - 1$ $kappa2 := mürel2 - 1$ magn. Suszeptibilitäten

Polschuhform konisch linear (V-förmig)

$wI := 350 \cdot A$ Amperewindungszahl

$x0 := 0.1 \cdot mm, 0.25 \cdot mm .. 1 \cdot mm$ halbe Spaltbreite in x=y=0

$\alpha := 0 \cdot Grad, 1 \cdot Grad .. 90 \cdot Grad$ konstanter Konuswinkel

$y := 0.1 \cdot mm, 0.2 \cdot mm .. 0.5 \cdot mm$ Arbeitsabstand

$x(y, \alpha, x0) := y \cdot \tan(\alpha) + x0$

$lx(y, \alpha, x0) := 2 \cdot x(y, \alpha, x0)$

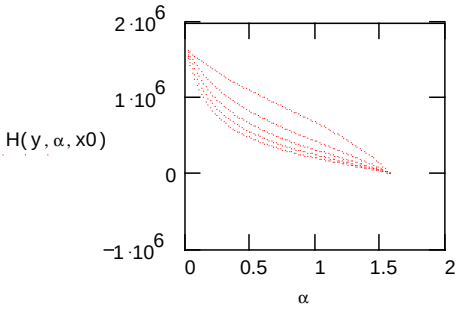
$$H(y, \alpha, x0) := \frac{mürel_e}{mürel1 \cdot le + mürel_e \cdot lx(y, \alpha, x0)} \cdot wI \qquad H(y, \alpha, x0) := \frac{mürel_e}{mürel1 \cdot le + mürel_e \cdot 2 \cdot (y \cdot \tan(\alpha) + x0)} \cdot wI$$

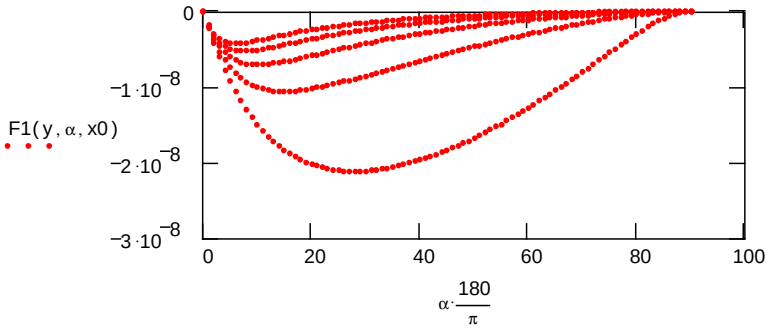
$$F1(y, \alpha, x0) := (kappa2 - kappa1) \cdot H(y, \alpha, x0) \cdot \frac{d}{dy} H(y, \alpha, x0)\ münull \cdot Vol$$

Abhängigkeit von Konuswinkel **alpha** und Abstand **y**

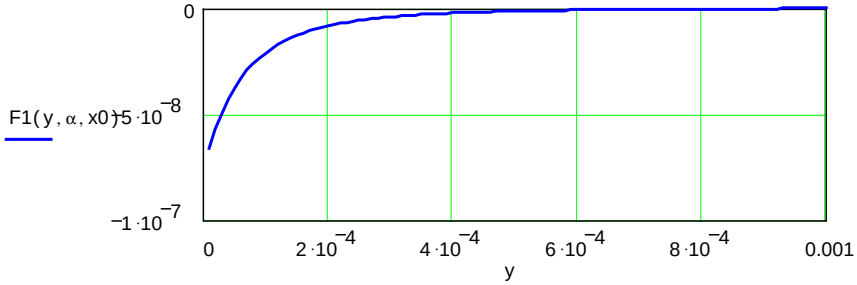
---

x0 := 0.1·mm





y := 0.01·mm, 0.02·mm .. 1·mm α := 30·Grad

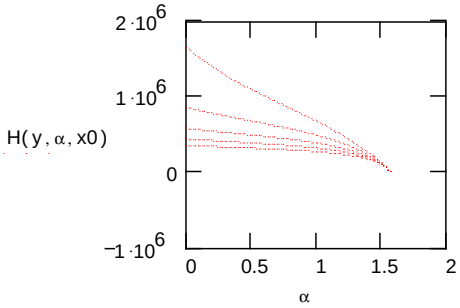


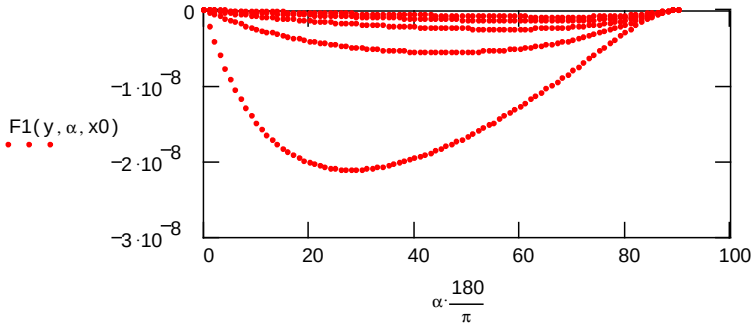
Abhängigkeit von Konuswinkel **alpha** und Polschuhabstand **x0**

α := 0·Grad, 1·Grad .. 90·Grad

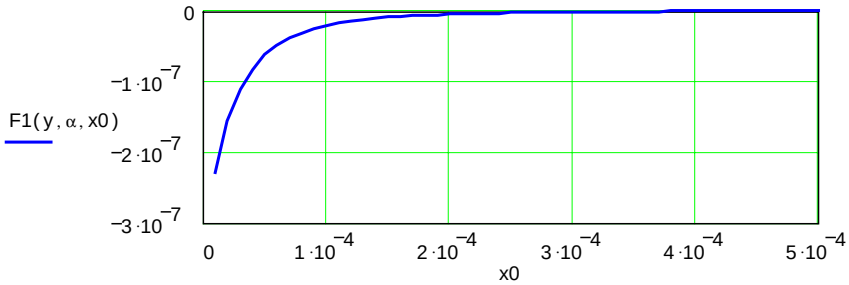
x0 := 0.1·mm, 0.2·mm .. 0.5·mm

y := 0.1·mm





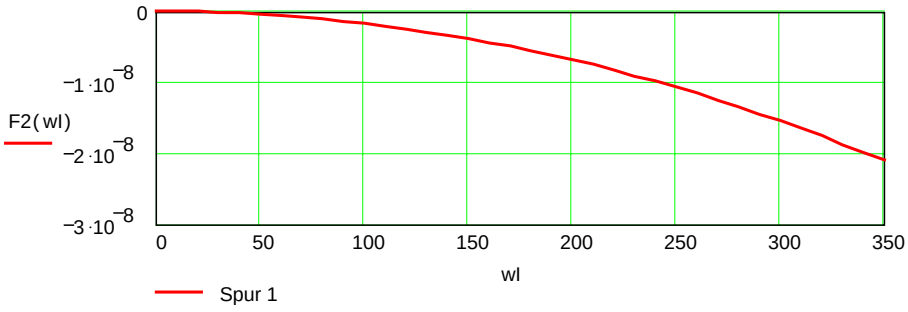
x0 := 0.01·mm, 0.02·mm .. 0.5·mm α := 30·Grad



Abhängigkeit von Strom **wl** bei bestimmtem **y, x0,** α

$wl := 0 \cdot A, 10 \cdot A .. 350 \cdot A$ $\qquad$ $x0 := 0.1 \cdot mm$

$$F2(wl) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left[\frac{mürel_e}{mürel1 \cdot le + mürel_e \cdot 2 \cdot (y \cdot \tan(\alpha) + x0)} \cdot wl \right] \cdot \frac{d}{dy} \frac{mürel_e}{mürel1 \cdot le + mürel_e \cdot 2 \cdot (y \cdot \tan(\alpha) + x0)} \cdot wl \cdot münull \cdot Vol$$



$wl := 350 \cdot A$ $\qquad$ $y := 0.1 \cdot mm$ $\qquad$ $\alpha := 30 \cdot Grad$ $\qquad$ $x0 := 0.05 \cdot mm$ $\qquad$ $le := 50 \cdot mm$

$$F1(wl, y, \alpha, x0) := (kappa2 - kappa1) \cdot \left[\frac{mürel_e}{mürel1 \cdot le + mürel_e \cdot 2 \cdot (y \cdot \tan(\alpha) + x0)} \cdot wl \right] \cdot \frac{d}{dy} \frac{mürel_e}{mürel1 \cdot le + mürel_e \cdot 2 \cdot (y \cdot \tan(\alpha) + x0)} \cdot wl \cdot münull \cdot Vol$$

$F1(wl, y, \alpha, x0) = -6.284 \cdot 10^{-8}\ kg \cdot m \cdot s^{-2}$

Die Verhältnisse der Feldkraftberechnung vereinfachen sich (nach [3]), wenn die Polschuhe eine konische Kontur gemäß

$$R^{2/3} \cdot \sin(3\alpha / 2) = konst \qquad \text{aufweisen.}$$

In diesem Spezialfall bleibt die Magnetkraft Fy innerhalb eines großen Bereiches in y-Richtung konstant. Daher erübrigt sich die Kenntnis der genauen Position (Arbeitsabstand y) des Meßobjektes im Spalt während der Messung der Mikrotubuli-Bewegungskraft.

Polschuhform konisch nichtlinear ($R^{2/3}$-Funktion)

$\alpha := 90 \cdot Grad$ — Konuswinkel bei x=y=0 (Randbedingung)

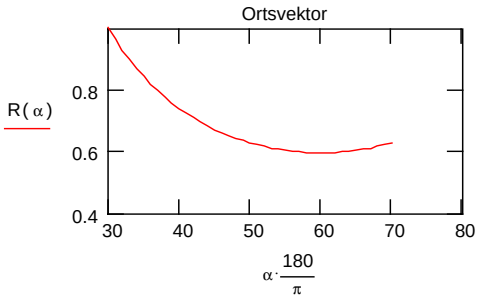
$R_0 := 1 \cdot mm$ — halbe Spaltbreite bei y=0 und α=90° (Randbedingung)

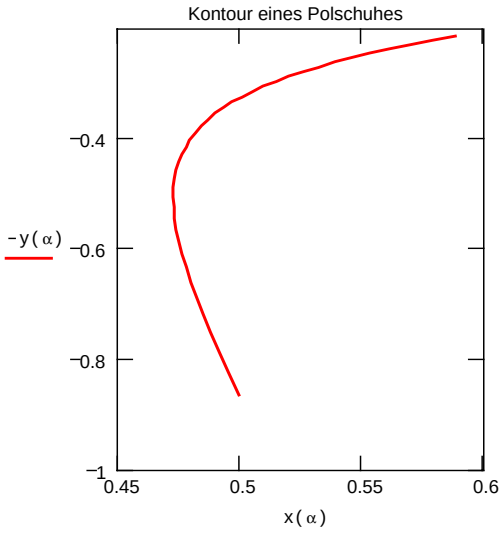
$K := R_0^{\frac{2}{3}} \cdot \sin\left(\frac{3}{2} \cdot \alpha\right)$ $\qquad K = 7.071 \cdot 10^{-3}\ m^{0.667}$ — spezifische Formkonstante

$\alpha := 70 \cdot Grad, 69 \cdot Grad .. 30 \cdot Grad$

$$R(\alpha) := \frac{1}{\sin\left(\frac{3}{2} \cdot \alpha\right)^{\left(\frac{3}{2}\right)}} \cdot K^{\left(\frac{3}{2}\right)} \cdot 10^3$$ — Ortsvektor in [mm]

$x(\alpha) := R(\alpha) \cdot \sin(\alpha)$ $\qquad y(\alpha) := R(\alpha) \cdot \cos(\alpha)$





Die Simulation eines derartigen Magnetkreises wurde mit Hilfe der Finite Elemente Methode durchgeführt. Dabei wurde der geometrische Maßstab und die Orientierung des Eisenkreises an die Erfordernisse der Darstellung angepaßt. Die Bewegungsrichtung (x) der zu messenden Mikrotubuli muß dabei horizontal, etwa mittig durch die Polschuhe. Dadurch kann die Kraftkomponente zu den Polschuhen hin (y-Richtung) vernachlässigt. Die Ergebnisse für das Material Eisen sind in Abbildung 23 bis Abbildung 26 dargestellt. Die linearen Bereiche im Flußdichteverlauf entlang der Distance x auf der Symmetrielinie zwischen den Polschuhen (siehe Abbildung 25) stellen die Bereiche konstanter Feldkraft in x-Richtung. Befindet sich im Spalt ein Magnetbead, so steigt die Flußdichte dort sprunghaft an. Der Betrag der erreichbaren Magnetkraft wird nach einer Korrekturrechnung aus den FEM-Daten ermittelt.

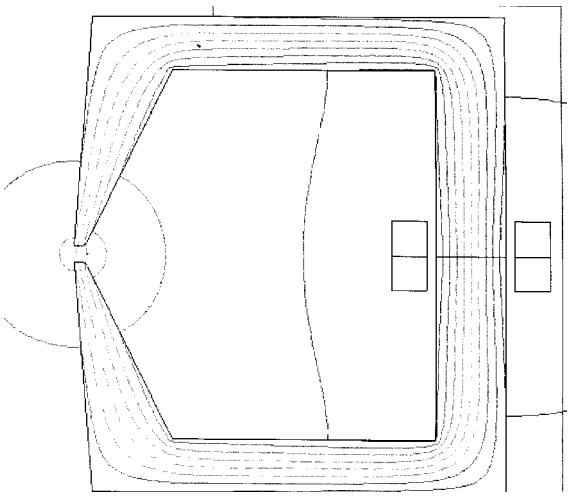


Abbildung 23: Feldlinienverlauf

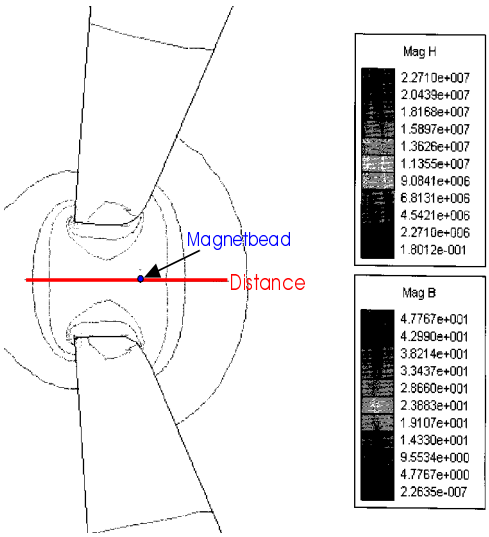


Abbildung 24: B-Linienverlauf

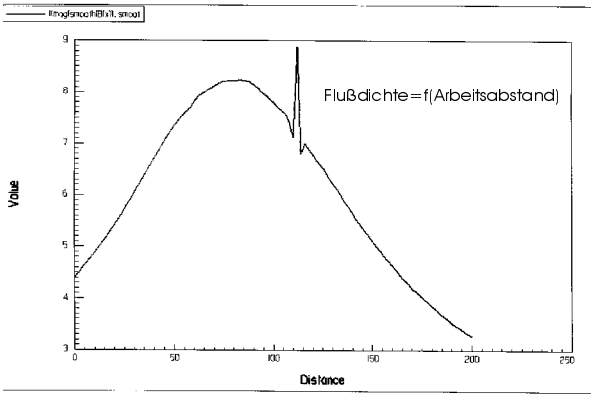


Abbildung 25: Flußdichtefunktion

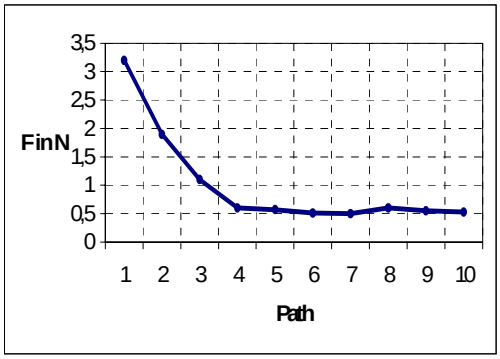
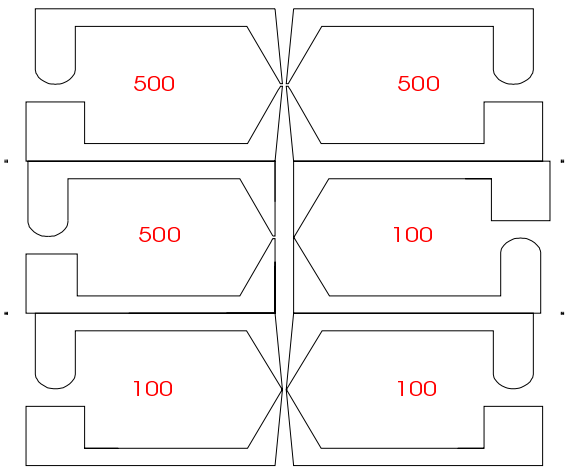


Abbildung 26: Feldkraftberechnung

$mürel_{Fe} := 4000$	rel. Permeabilität des Eisenkreises
$w := 3500$	Windungszahl der Quelle
$I := 0.1 \cdot A$	max. Stromstärke
$r_b := 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$	Radius des Magnetbead
$mürel_b := 2$	rel. Permeabilität des Beads
$L := 1 \cdot m$	virtuelle Länge des Beads (bei 2D-Simulation
$F_q := 0.55 \cdot N$	mittlere simulierte Feldkraft
$F_{real} := F_q \cdot \frac{(4 \cdot r_b)}{3 \cdot L}$	reduzierte (reale) Feldkraft
$F_{real} = 7.333 \cdot 10^{-7}\ N$	**Kraft am Bead**



Gemäß den Koordinatenpunkten x(α), y(α) wurde die Kontur der Polschuhe mittels CAD auf eine Lithografie-Maske übertragen (siehe Abbildung 27). Die Spaltbreiten variierten von 100µm bis 500µm. Die Maske diente zur Strukturierung von 3 Standard-Objektträgern mit jeweils 2 unabhängig voneinander steuerbaren Magnetkreisen. Zur Einkopplung des Flusses durch einen konfektionierten Elektromagneten wurden entsprechend konstruierte Kontaktpunkte vorgesehen.

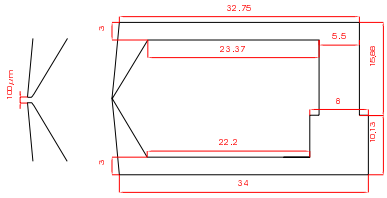


Abbildung 27: Maskenlayout

4.6.2.2 Herstellung des Magnetkreises

Voraussetzung für die Vernachlässigung der Magnetkraftkomponenten senkrecht zur Bewegungsebene der Mikrotubuli ist eine sehr hohe Kantensteilheit des Polschuhprofils bezüglich dieser Ebene (z-Richtung, siehe
Abbildung 22). Um das zu gewährleisten mußte eine Vielzahl von Technologien und Verfahrensschritten zur Erzeugung der geforderten Polschuhe auf ihre Eignung untersucht werden.

Mikrostrukturierung durch Bedampfung

Dazu wurden folgende technologische Schritte durchlaufen.

- *physikalische Strukturierung*

1. Resistbeschichtung auf Objektträgersubstrate
2. Lithografie mit Maskenlayout
3. therm. Bedampfung Reinsteisen (ca. 1400nm Schichtdicke)
4. Lift-off Prozeß
5. Reinigung

Der Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, daß durch den Lift-off Prozeß die Strukturkanten der Polschuhe eine ungenügende Kantenqualität besitzen und dadurch für diese Meßaufgabe nicht geeignet sind. (siehe Abbildung 28)

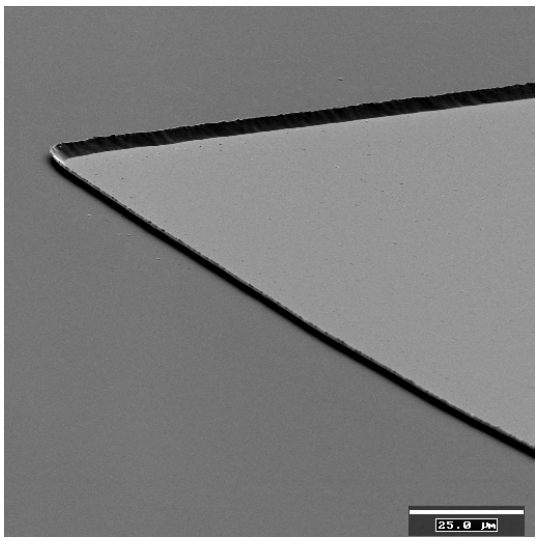


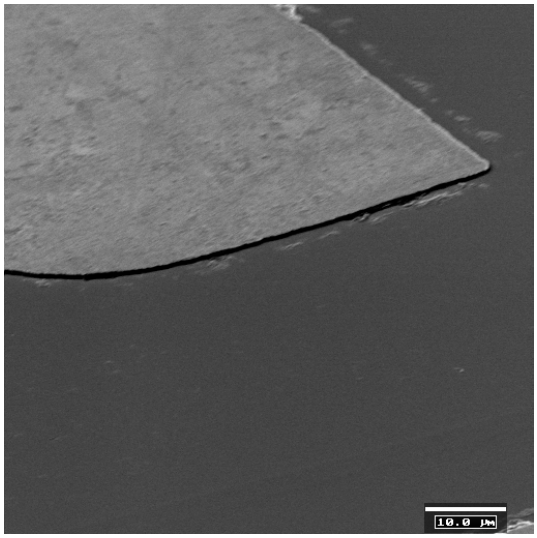
Abbildung 28: Goldschicht nach Strukturierung

Die Alternative wurde in einer chemischen Strukturierung gesehen, die in den nachfolgend aufgeführten Schritten durchgeführt wurde.

- *chem. Strukturierung*

1. therm. Bedampfung von ca. 1400nm Schichtdicke Reinsteisen auf Objektträgersubstrate
2. Resistbeschichtung
3. Lithografie mit Maskenlayout
4. naßchemisches Ätzen der Eisenschicht
5. Resist entfernen, Reinigung

Die Kanten der Polschuhe weisen eine hohe Steilheit auf (siehe Abbildung 29).



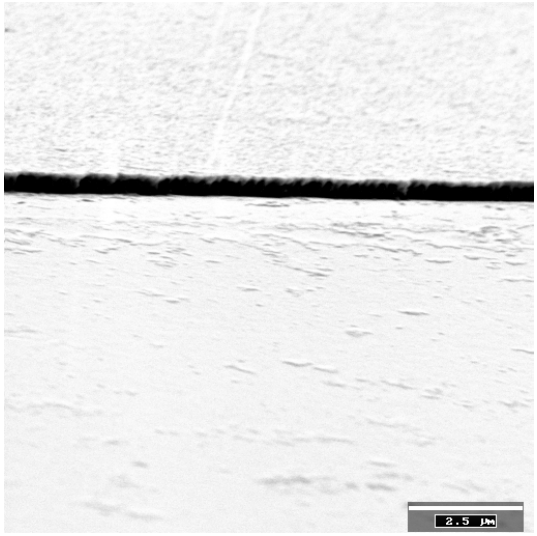
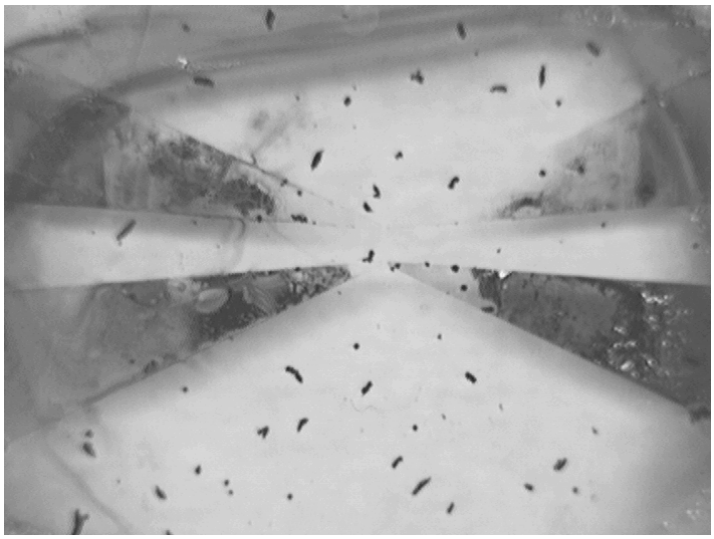


Abbildung 29: Eisenschicht nach Strukturierung

Allerdings war die relativ dünne Schicht nicht ausreichend resistend bei Experimenten in wässrigen Lösungen (siehe

Abbildung 30). Dazu ist eine Passivierung der Eisenstruktur als weitere Schicht erforderlich. Versuche diese aus Siliziumoxid oder Polymeren herzustellen sind vorbereitet worden. Ein



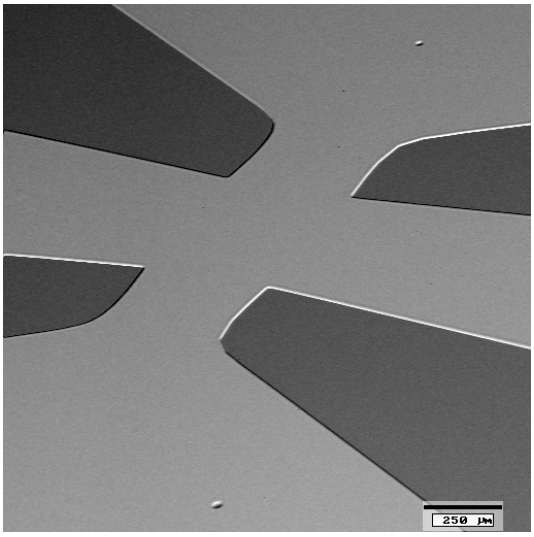
weiteres Problem besteht in der technologisch bedingten geringen Schichtdicke bzw. Querschnittes des Magneteisenkreises. Der dadurch hervorgerufene hohe magnetische Widerstand führt zu großen magnetischen Spannungsabfällen zwischen Quelle und den Polschuhen, der zu einer Sättigung im Magnetmaterial führen kann. Dadurch werden die Feldkräfte im Luftspalt begrenzt.

Abbildung 30: korrodierte Polschuhe

Für die Fortführung der Experimente ist dieser Umstand zu berücksichtigen und der Einsatz anderer weichmagnetischer Materialien zu untersuchen.

Strukturierung durch Mikrogalvanik

Um den magnetischen Widerstand zu reduzieren wurden Wege gesucht, um die Schichtdicke der Flußleitstruktur zu erhöhen. Eine Möglichkeit besteht in der galvanischen Abscheidung von weichmagnetischen Materialien. Dabei können auch hochpermeable Legierungen wie z.B. Permalloy strukturiert werden.
Die Strukturierung setzt eine elektrisch leitfähige und auf dem Substrat sehr gut haftende Startschicht voraus. Diesbezüglich wurden die Materialien Eisen, Chrom, Aluminium, Gold, Nickel und Schichtkombinationen aus diesen Stoffen überprüft.



- *ohne Maskierung*

1. Aufbringen einer Startschicht durch Bedampfung oder Sputtern
2. Resitbeschichtung
3. Lithografie
4. Strukturierung der Startschicht durch naßchemisches Ätzen
5. Resistentfernung
6. Galvanik
7. Reinigung

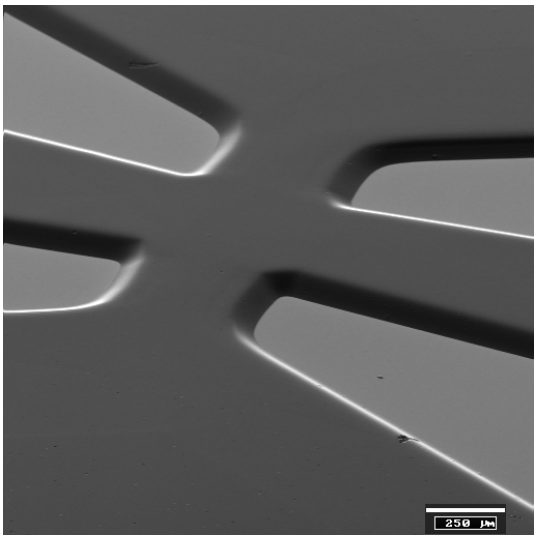
Der Vorzug dieser Technologie liegt in der Verwendung von Standardresisten geringer Schichtdicke und in der nicht notwendigen Galvanikresistenz. (siehe Abbildung 31)

Abbildung 31: Nickel-Startschicht nach Lithografie

Dabei besteht allerdings das Problem erhöhter Schichtdicke an den Strukturkanten aufgrund unterschiedlicher Felstärkeverteilungen gegenüber der Flächenstruktur. Das hat eine schlechte Kantensteilheit zur Folge sowie das Auftreten hoher mechanischer Spannungen innerhalb des Schichtsystems, wodurch es zum Ablösen des gesamten Schichtaufbaus vom Substrat kam.
Ein Ausweg konnte mit einem variierten Prozeßablauf erzielt werden.

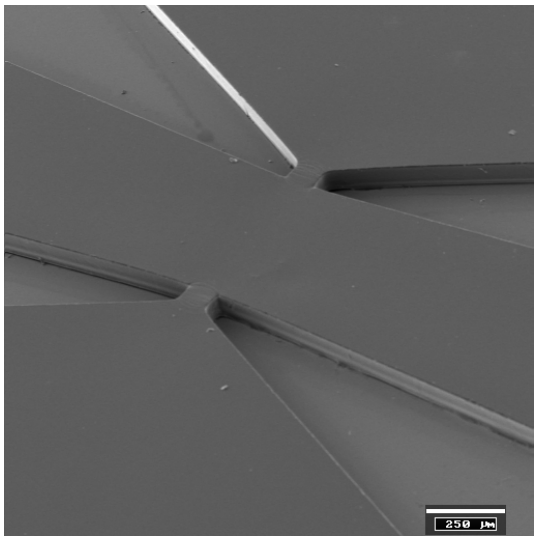
- *mit Maskierung*

1. Aufbringen einer Startschicht durch Bedampfung oder Sputtern
2. Resistbeschichtung
3. Lithografie
4. galvanisches Auffüllen der Resiststruktur
5. Resistentfernung und Reinigung



Unter Anwendung von speziellen Dichschichtresisten wurde versucht steile Wände in der Maskierung für die galvanische Abformung zu erzeugen.
Versuche mit einem Positivrest bis zu 50µm Dicke führten zu einer starken Kantenverrundung und Strukturaufweitung (siehe Abbildung 32).

Abbildung 32: Dickresist auf Startschicht



Die Verwendung eines Negativresistes ergab bis zu einer Schichtdicke von 100µm nahezu senkrechte Wände (siehe Abbildung 33).
Aufgrund der hohen Lösungsmittelresistenz des Polymers (Negativresist) war es nicht möglich die Maskierung nach dem Galvanikprozeß zu entfernen, ohne die Permalloyschicht zu zerstören .

Abbildung 33: Negativresist nach Lithografie

Mikrostrukturierung durch Ätzen

Eine weitere Möglichkeit der Herstellung des Magnetkreises besteht in der konventionellen Technik des Ätzens von metallischen Materialien.
Im vorliegendem Fall wurde eine 50µm dicke Mumetallfolie mit der entsprechenden Polschuhgeometrie maskiert und mit Salpetersäure verschiedener Konzentrationen im Tauchbad sowie im Sprühätzverfahren strukturiert. Beim Ätzen im Tauchverfahren trat eine sehr starke Unterätzung der Maskierung auf (bis 150% der Tiefenätzung) infolge der Isotropie des Prozesses. Die geforderte Flankenqualität der Polschuhe konnte damit nicht erreicht werden.
Wesentlich bessere Ergebnisse wurden durch das Sprühätzen erreicht.
Trotz beidseitiger Strukturierung konnte das Unterätzen nicht ausreichend unterbunden werden, welches zur Ausbildung konischer Flanken führte. (siehe Abbildung 34)

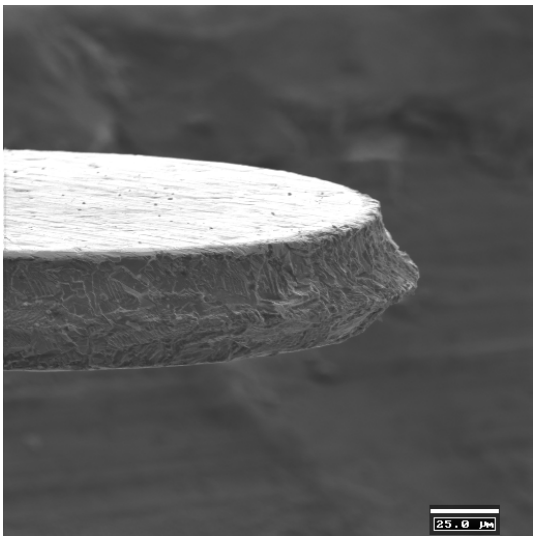


Abbildung 34: Polschuh nach Sprühätzen

Da die bisher betrachteten Technologien die Forderungen an die Flankensteilheit nicht erfüllten, wurden Versuche zum Trennen der Mumetallfolie mittels Diamantsäge (Wafersäge) durcheführt. Beim Sägen trat an der Schnittkantenunterseite der Folie ein Grat auf, der nur durch eine mechanische Nachbearbeitung entfernt werden kann. Die Steilheit der Flanken entspricht den Anforderungen. (siehe Abbildung 35)

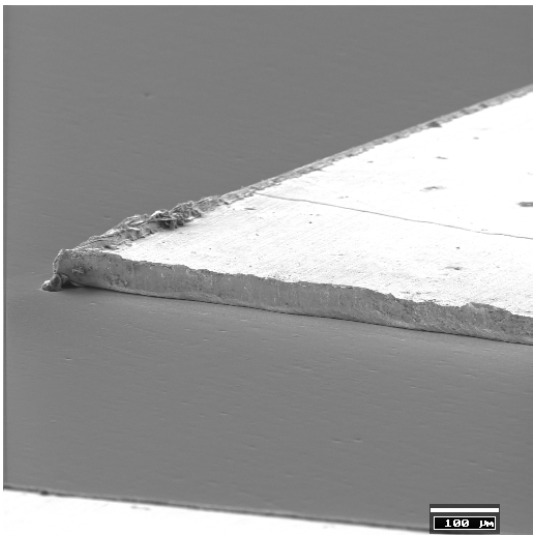
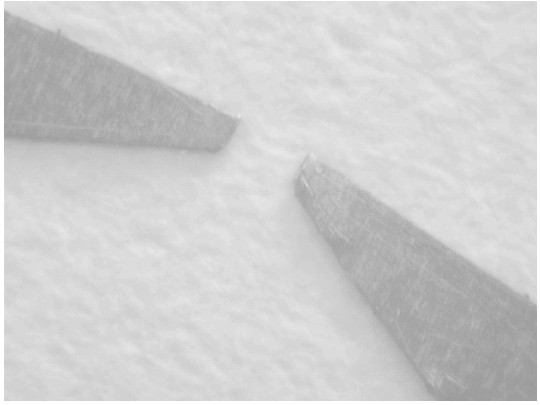


Abbildung 35: Schnittkante durch Wafersäge

Desweiteren wurde Untersuchungen zum Schneiden der Polschuhform mit einem Nd-YAG Laser durchgeführt.
Nach Optimierung der Schnittparameter konnten zufriedenstellende Ergebnisse erzielt werden. (siehe Abbildung 36)

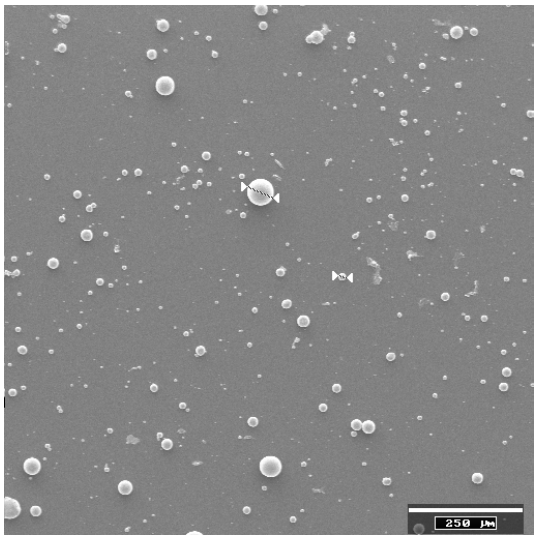


Für alle in den Herstellungsverfahren benutzten Materialien des Magnetkreises wurden Untersuchungen zur physiologischen Verträglichkeit mit den verwendeten biologischen Komponenten durchgeführt.
Dabei konnten keine negativen Einflüsse auf die Beweglichkeit der Mikrotubuli festgestellt werden.

Abbildung 36: laserbearbeitete Polschuhe

4.6.3 Eigenschaften und Handling magnetischer Lasten zur Ankopplung an Mikrotubuli

Alle genannten Verfahren zur Kraftmessung mit Magnetfeldern beruhen darauf, daß auf einen, mit dem Magnetfeld wechselwirkender Probekörper, eine Kraft durch das Magnetfeld ausgeübt wird und dieser Probekörper mit dem zu vermessenden Objekt (Mikrotubuli) mechanisch fest verkoppelt ist.
Für die Größe der Kraft auf den Probekörper spielen sein Volumen und seine magnetischen Eigenschaften eine dominierende Rolle. Das Volumen des Probekörpers muß mit den Mikrotubuli in ähnlichem Größenverhältnis stehen, um eine Ankopplung zu erreichen.
Der wichtigste magnetische Parameter des Probekörpers ist seine relative Permeabilität bzw. seine Suszeptibilität (siehe Berechnungen zur Magnetkraft).
Bei den bisher betrachteten kommerziellen Magnetbeads (bis 2µm Durchmesser) handelt es sich um hartmagnetische Stoffe (Fe_3O_4), welche eine kleine Permeabilität (maximal μ_{rel}=2) besitzen. Die damit erreichbaren Kräfte liegen an der Grenze des geforderten Betrages von 5...100pN.



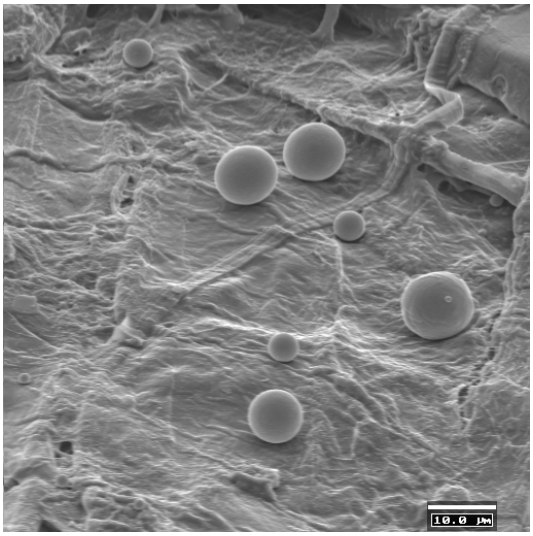


Abbildung 37: Weicheisenbeads

Ein weiteres Problem bestand bei der Handhabung des Beads auf Grund ihres Restmagnetismus, der sich durch Kettenbildung und Verklumpung der Beads im Bewegungsassay äußerte (ohne äußeres Magnetfeld). Die Ankopplung an die Mikrotubuli wird dadurch erschwert bzw.

vollständig verhindert. Versuche, diese Ketten mit Hilfe von Ultraschallschwingungen aufzulösen, brachten keinen Erfolg.
Aus den o.g. Gründen wurden in weiteren Versuchen Beads mit einer sehr hohen rel. Permeabilität (60000) verwendet. Da derartige Beads nicht handelsüblich sind, wurden diese durch Elektroerosion hergestellt. Dazu wurden Streifen aus hochpermeabler Folie (Mumetall) in einer Funkenstrecke unter deionisiertem Wasser abgeschmolzen. Die dabei entstandenen Beads wiesen Durchmesser im Bereich von 10nm bis 100µm auf. Die Abbildung 37 zeigt eine Rasterelektronemikroskop (REM)-Aufnahme solcher, mit dieser Technologie hergestellten Beads. Diese weichmagnetischen Beads weisen die gleichen Eigenschaften wie die zur Herstellung verwendete Ausgangsfolie auf. Besonders vorteilhaft auf die Handhabung wirkt sich der geringe bzw. nicht vorhandene Restmagnetismus aus, wodurch es zu keiner Gruppenbildung kommt.

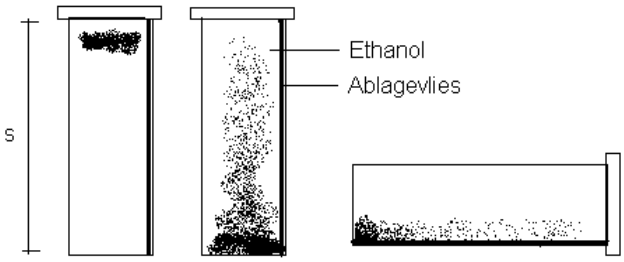


Abbildung 38:

Trennung von Suspension bis 100µm Beaddurchmesser

$\rho_b := 8700 \cdot \frac{kg}{m^3}$ Dichte von Mumetall

$\rho_f := 1000 \cdot \frac{kg}{m^3}$ $\eta_f := 1 \cdot 10^{-3} \cdot Pa \cdot s$ Dichte, Viskosität der Flüssigkeit

$r := 0.01 \cdot 10^{-6} \cdot m, 0.05 \cdot 10^{-6} \cdot m .. 1 \cdot 10^{-6} \cdot m$ $d(r) := 2 \cdot r$ Durchmesser der Beads

$V(r) := \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3$

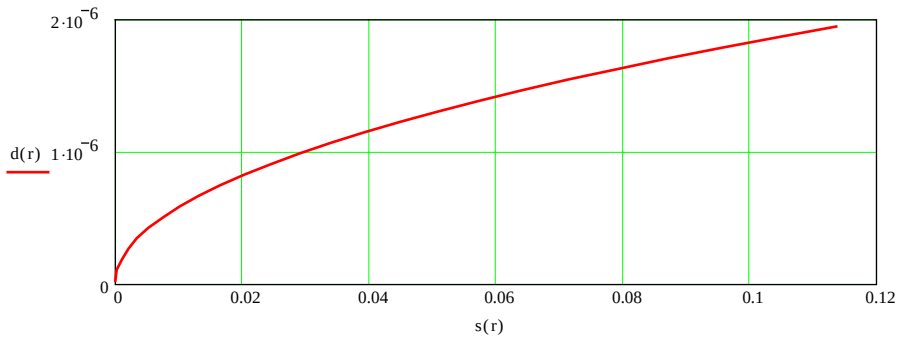
$Fa(r) := \rho_f \cdot V(r) \cdot g$ $Fs := 6 \cdot \pi \cdot \eta_f \cdot r \cdot v$ Reibkraft

$Fg(r) := \rho_b \cdot V(r) \cdot g$ $0 := Fs + Fa - Fg$

$v(r) := \frac{Fg(r) - Fa(r)}{6 \cdot \pi \cdot \eta_f \cdot r}$ Sinkgeschwindigkeit

$t := 2 \cdot h$ **Separationszeit**

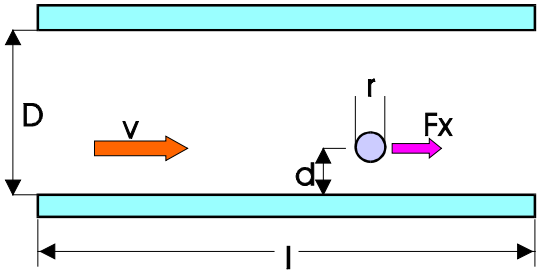
$s(r) := v(r) \cdot t$ **Separationsstrecke**



Zur Separation, der in der Funkenstrecke hergestellten Beads, wurde die in der Abbildung 38 dargestellte Technologie eingesetzt. In einem mit Ethanol gefüllten Reagenzglas von S=12cm Länge wurden die erodierten Kolloide eingebracht. Nach einer Zeitdauer von ca. 2 Stunden wurde das Reagenzglas aus der Senkrechten in die waagerechte Lage gebracht. Dadurch lagerten sich die Beads nach ca. 30 Minuten auf dem Vlies ab. Anschließend wird das Vlies von der Flüssigkeit getrennt bzw. getrocknet. Auf dem getrockneten Vlies befanden sich nun die Beads in einer Größe wie sie im Diagramm d= f(S) dargestellt ist.

Experimente nach beiden Kraftmeßverfahren haben bestätigt, daß eine deutlich höhere Krafausbeute mit diesen Weicheisenbeads zustandekommt.
In weiteren Experimenten ist zu überprüfen, inwieweit eine Ankopplung der Beads an Mikrotubuli möglich ist.

4.7 Fluidische Kraftmessung



Eine weitere Meßmethode ist die Nutzung der inneren Reibung von Flüssigkeiten. Das Prinzip bietet sich in diesem Fall besonders an, denn die Bewegung der Motorproteine findet ohnehin stets in einer Lösung statt. Eine einfache analytische Beziehung liefert das "Stokesche Gesetz".

Abbildung 39: Kraftmessung mittels Strömung

$$Fx = 6\pi\eta rv\left[1+\frac{9r}{16\left(d-\frac{d^2}{D}\right)}\right] = 6\pi\eta rv * K$$

Es beschreibt die auf eine Kugel mit Durchmesser (Radius) **r** wirkende Dämpfungskraft, welche sich mit der Geschwindigkeit **v** in einem Medium der Viskosität η bewegt. Es ist zu beachten, daß die Bewegungsebene der "beads" sehr nahe der Oberfläche des Supportes liegt. In diesem Bereich wirken Grenzflächeneffekte, die einer Vergrößerung der Viskosität gleichkommen. Deshalb wird ein geometrischer Korrekturfaktor **K** eingeführt **[4]**.

Ein Kügelchen ("bead") wird an der Oberfläche eines Mikrotubulus angekoppelt und schafft somit die Voraussetzung der Anwendbarkeit des "Stokeschen Gesetzes". Das Bead muß in diesem Fall keine magnet. Eigenschaften besitzen, wodurch sich die Frage der Anbindung an die zu messenden Mikrotubuli vereinfacht (Verwendung von z.B. Latexkügelchen). Der Strömungswiderstand des Proteins kann gegenüber der des "bead" vernachlässigt werden (Größenverhältnis ca. 1/100). Die Bewegungsgeschwindigkeit **v** wird von außen erzeugt, indem man die Pufferlösung durch das Bewegungsassay strömen läßt (siehe Abbildung 39). Diese laminare Strömung ist der Mikrotubulibewegung entgegengerichtet. Die Strömungsgeschwindigkeit des Fluids ist variabel einstellbar und berechnet sich aus dem eingeprägten Volumenstrom

$$v = \frac{V}{t} \cdot \frac{2}{\pi D^2} \left(1 - \frac{\left(\frac{D}{2} - d \right)^2}{D^2} \right)$$

oder dem anliegenden Druckes **[5]**.

$$v = p \frac{D^2 - \left(\frac{D}{2} - d \right)^2}{4\pi l}$$

Die Kraftbestimmung erfolgt durch stetige Erhöhung der Gegenströmung bis zur Kompensation der Vorwärtsbewegung des Kügelchen am Mikrotubulus. Die anliegende Strömungsgeschwindigkeit ist äquivalent der Blockierkraft am Kügelchen.
Bedingung für alle Versuche unter Verwendung von angekoppelten "beads" ist, daß die Bindungskraft der Kügelchen höher ist, als die Bewegungskraft der Motorproteine. Das wird sich in praktischen Tests zeigen.

5. Anforderungen an die Umgebungsbedingungen und Voraussetzungen zum Aufbau eines Nanoantriebes

Für die Konstruktion eines Nanoaktors sind die folgenden technologischen und werkstoffseitigen Voraussetzungen zu beachten.

1. Die Rauhigkeit und Planität der Funktionsflächen (Kinesin, Tubuli – Bindungsfläche) muß < 20nm betragen. Für die Technologie bedeutet das, daß diese Oberflächen keinem Ätzprozeß unterzogen werden dürfen.
2. Die Auswahl der Konstruktionsmaterialien im Funktionsraum muß auf chemische Verträglichkeit mit den Funktionspartnern geprüft sein. Einige Elemente gehen Bindungen mit den Proteinen ein die eine Beweglichkeit verhindern.
3. Die Kapillar- und Gewichtskräfte am Läufer sind zu kompensieren. An die Tubuli angreifende Kräfte, die nicht dem Antrieb dienen, sind kleiner als 1pN zu wählen.
4. Die Funktionsreaktanten (ATP, Kofaktoren) sind störungsfrei, ohne Strömung in den Funktionsraum einzubringen.
5. Die unterschiedliche Bindungsfähigkeit des Kinesins an die Funktionsflächen ist bei der Wahl der Materialien im Funktionsraum (Dünnschichttechnologie) zu beachten.

5.1 Kaskadierung

Der Einsatz der biomolekularen Nanoaktoren in technischen Systemen wird sich weder auf die Nutzung der Arbeit einzelner Kinesinmoleküle noch auf die Linearbewegung einzelner Makromoleküle beschränken. Dafür sind die Leistungsabgaben zu gering. Eine der wichtigsten Forderungen an einen zu konzipierenden Nanoantrieb ist die Kaskadierbarkeit der Antriebselemente (AE). In der Makrotechnik bedeutet das die Parallel- oder Serienschaltung von gleichartigen Antriebsprinzipien bzw. –elementen. Für das Beispiel eines elektromagnetischen Linearmotors kann die Kaskadierung elektrischer Art (Verschaltung von Spulen) oder mechanischer Art (Verkopplung von Abtrieben) sein. Diese Maßnahmen bewirken immer eine höhere Ausgangsenergie des Motors. Die Art und der Grad der Kaskadierung richtet sich nach den zu erzielenden Leistungsdaten des Motors und stellt einen Kompromiß zwischen:

- Parallelisierung ⇒ hohe Stellkraft und
- Seriellisierung ⇒ großer Stellweg dar.

Übertragen auf den speziellen Fall des Nanoantriebes wäre im ersten Schritt eine **parallele Kaskadierung** anzustreben. Der Grund dafür liegt aus technischer Sicht in der einfacheren

geometrischen Anordnung von parallelgeschalteten Molekülen gegenüber aneinandergeketteten. Der Effekt einer Vervielfachung der nutzbaren Stellkraft ist außerdem erwünscht, kann allerdings nicht automatisch erwartet werden. Es gibt keine starren Bindungen zwischen den Proteinen und deshalb keine definierbare Gleichartigkeit aller Antriebs- und Übertragungselemente.
Auf die Antriebselemente bezogen liegt bereits eine **flächenhafte** Parallisierung vor, indem sich die Kinesinmoleküle als „Teppich“ an den Support anlagern und dort durch gleiche Bedingungen **chemisch** miteinander gekoppelt sind (entsprechend Abbildung 3b).
Zusätzlich führt das Ankoppeln von mehreren Kinesinen (AE) an einen Mikrotubus (ÜE) zu einer **linienhaften** Parallelisierung von AE. Die Mikrotubuli heben das parallele Arbeiten der Kinesine jedoch nach außen hin auf, da die Orientierung der Makromoleküle in der Ebene statistisch verteilt ist.
Das Ziel besteht darin, eine Vielzahl von Makromolekülen an ein einem Wirkelement angreifen und Arbeit verrichten zu lassen, also eine **mechanische** Parallelisierung auch der Mikrotubuli. Voraussetzung dafür ist ein gleichgerichteter Energievektor aller AE. Da der Richtungssinn der Kinesinbewegung nur von der Polarität der Mikrotubuli abhängt, kann der Energievektor nur über eine Gleichorientierung der ÜE (Mikrotubuli) nach Richtung und Polarität ausgerichtet werden.

5.2 Orientierung der Makromoleküle

Die Ausnutzung des Dipolcharakters (Polarität) von Mikrotubuli zur Gleichorientierung der Moleküle mit Hilfe eines äußeren elektrischen Feldes wurde in Zusammenarbeit mit dem IMB-Jena untersucht. Dazu wurden verschiedene Elektrodenstrukturen zum Aufbau eines stationären Strömungsfeldes in der (elektrisch leitfähigen) Pufferlösung eines Bewegungsassay´s nach dem in Abbildung 3b dargestellten Prinzip getestet.
Die Anwesenheit eines elektrischen Feldes zeigte keine ausreichende Wirkung auf eine Neuorientierung der Makromoleküle von einem ungeordneten in einen ausgerichteten Zustand parallel zum Feldvektor.

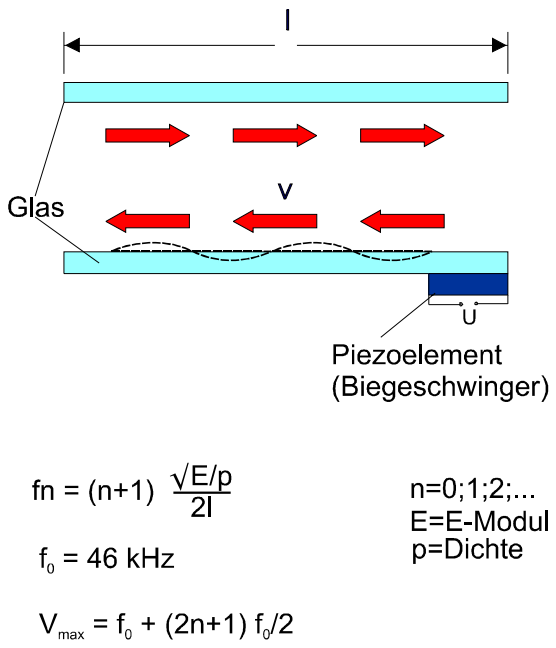


Abbildung 40: ultraschallinduzierte Strömung

Allerdings konnte der Einfluß einer durch das Feld hervorgerufenen fluidischen Strömung auf die Bewegungsrichtung der Mikrotubuli nachgewiesen werden. In weiteren Experimenten hat die in eine kanalförmige Probe eingeprägte Strömung für einen ausreichend hohen Grad der Ausrichtung gewährleistet.
Auf dieser Basis wurden Untersuchungen zur Erzeugung von fluidischen Strömungen mittels der Erzeugung von mechanischen Oberflächenwellen im Support durchgeführt. Es wurde ein Aufbau siehe Abbildung 40 verwendet. Der Piezokristall wurde mit Sinus-Signalen der Frequenzen von 5kHz bis 150kHz angeregt. Die Schwingung wurde auf eine Glasplatte angepaßter Dicke übertragen. Darauf befand sich eine Probenflüssigkeit, die durch ein Deckglas abgedeckt wurde.

Bei Vielfachen der Frequenz $\mathbf{f_0}$ konnte eine stark beschleunigte Bewegung von frei auf der Glasplatte liegenden Partikeln beobachtet werden. Dies ließ auf eine oberflächennahe laminare Strömung des Fluids schließen.

In der Mikrotechnik ist die Integration und Steuerung von Piezoelementen in Mikrosysteme einfach möglich. Dies macht einen derartigen Steuerungsmechanismus im Hinblick auf eine Systemlösung interessant. Andererseits bietet sich der Einsatz von Mikropumpen als integrierte oder externe Elemente an, um die nötige Strömung aufzubauen. Entsprechend strukturierte Mikrokanäle würden die Strömung weiterzuleiten und in definierte Richtungen zwingen.
Inwieweit derartige Prinzipien für die Ausrichtung der Moleküle nutzbar sind und welche Auswirkungen die Ultraschallschwingungen auf das Bindungs- und Bewegungsverhalten der Proteine haben ist noch detailliert zu testen und zu bewerten.

5.2.1 Bewegung an Hindernissen

Für die Gestaltung der Statoroberfläche und die Möglichkeit der Orientierung der Makromoleküle auf dem Support mit Hilfe von geometrischen Strukturen ist es interessant, eine Abhängigkeit der Bewegungsfähigkeit der Motorproteine von Hindernissen zu untersuchen. Dabei spielen Art (Flankenwinkel) und Größe (Flankenhöhe) sowie Oberflächenbeschaffenheit des Hindernisses eine Rolle.
Experimente dazu wurden an in Siliziumdioxidschichten verschieden geätzten Stufenstrukturen durchgeführt. (siehe

Abbildung 41) Als Ätztechniken kamen sowohl naßchemische (siehe Abbildung 42) als auch trockenchemische (siehe Abbildung 43) Prozesse zum Einsatz. Die unterschiedliche Flankenqualität und der Flankenwinkel konnten durch Anpassung der Prozeßparameter optimiert werden.

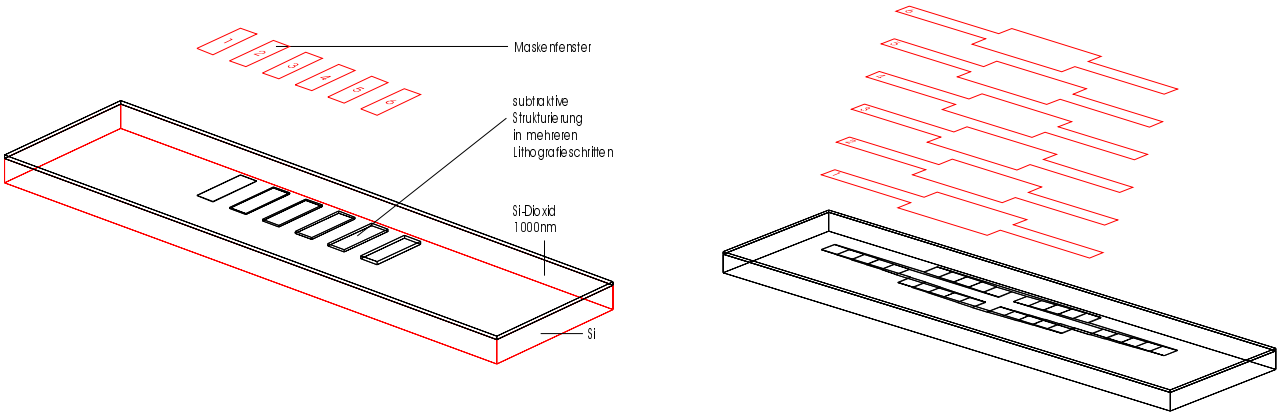


Abbildung 41: Treppen-, Grabenstruktur

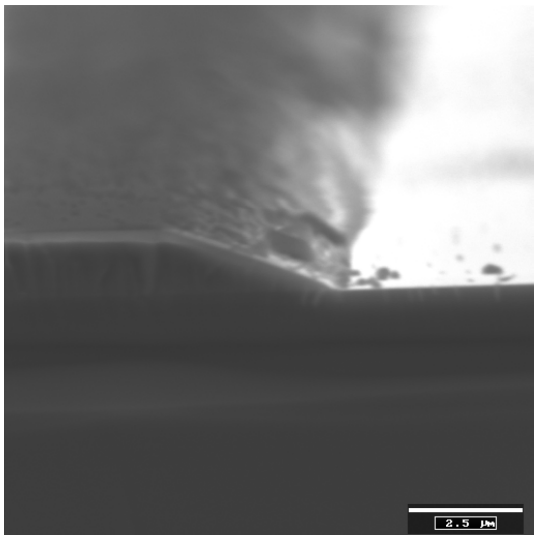


Abbildung 42: 800nm-Stufe, naß geätzt

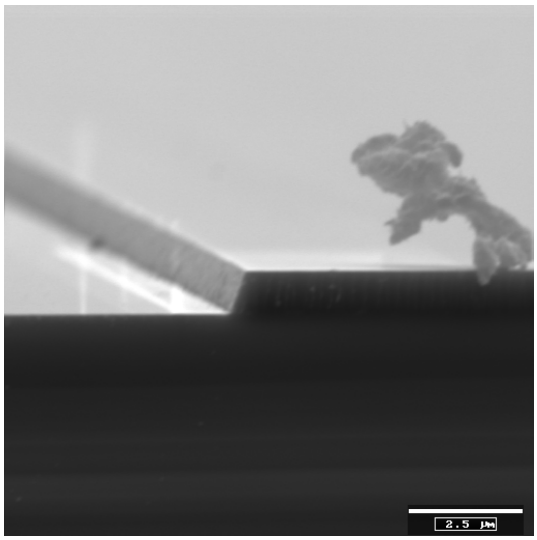


Abbildung 43: 800nm-Stufe, trocken geätzt

Die Untersuchungen von derartigen Strukturen im Bewegungsassay wurden am IMB Jena durchgeführt und die Ergebnisse dokumentiert.

6. Grundkonzept für einen Nanoantrieb

Als einfachster und deshalb zuerst zu realisierender Aufbau wird ein **planarer**, **linearer** Antrieb angesehen. Das Wirkelement soll die Form eines **ebenen** Läufers erhalten. Die Art der Kaskadierung wird demzufolge **mechanisch, flächenhaft** sein. Der Grundaufbau und das Funktionsprinzip wird der Abbildung 44 entsprechen.

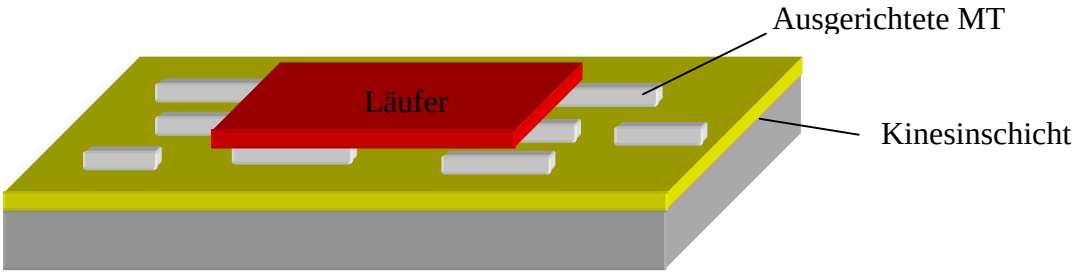
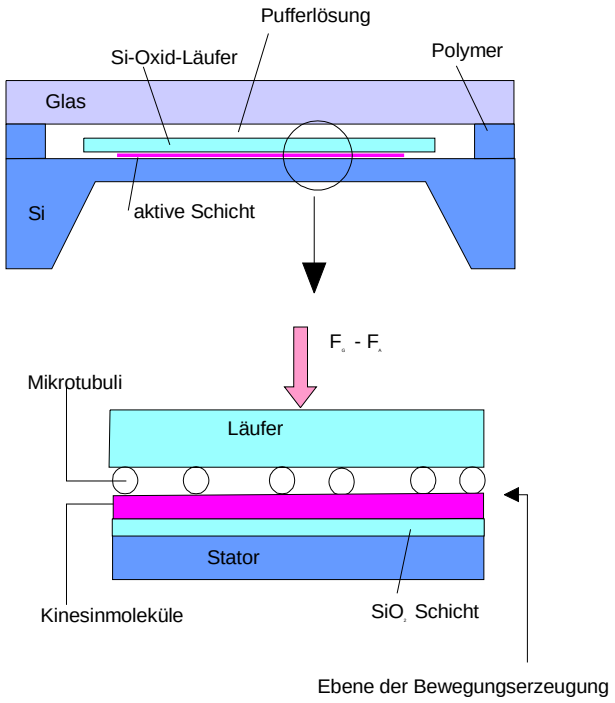


Abbildung 44: Grundaufbau eines translatorischen Nanoantriebes

6.1 Verwirklichung des Grundkonzeptes

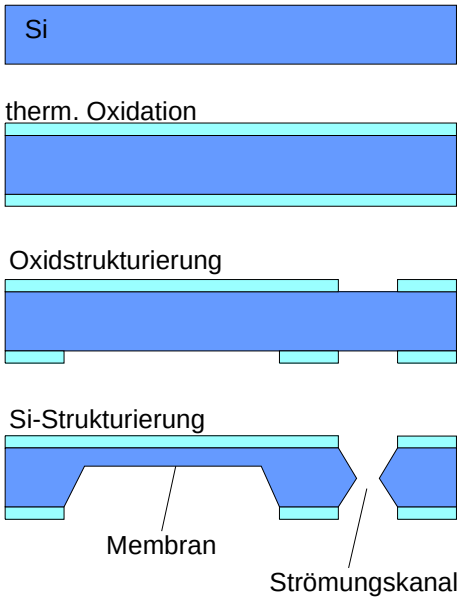
6.1.1 Läuferankopplung (Variante A)

Der Grundaufbau des Linearmotors wurde unter Berücksichtigung der Mikrostrukturtechnologie auf der Basis von Silizium in Form eines Einkoordinatenantriebes konzipiert. In Abbildung 45 ist



eine Prinzipdarstellung der Funktionselemente gezeigt.
Der Stator wird so durch anisotropes Ätzven gefertigt, daß eine elastische Membran entsteht. Diese übernimmt die Aufgabe der Start/Stop-Steuerung (siehe Abbildung 48). An der Oberseite des Stators befindet sich eine Oxidschicht, die das Binden des Kinesins ermöglicht. Außerdem werden Mikrokanäle zur Medienversorgung (Kofaktoren) sowie zur Erzeugung einer Fluidströmung eingebracht. (siehe Abbildung 46)
Auf dem Stator wird ein Kanal von ca. 50µm Höhe und 50mm Länge

Abbildung 45: Schnittdarstellung des Nanolinearmotors



strukturiert, welcher durch einen transparenten Körper (Deckglas) hermetisch abgedichtet wird. Damit ist es möglich, die Läuferbewegung mit dem Auflichtmikroskop zu beobachten Der Läufer besteht aus einer sehr dünnen (<1µm) SiO_2-Struktur von ca 1x1mm^2 Fläche. In Ausführungsvariante A wird der Läufer nur durch seine Gewichtskraft an die Mikrotubuli gekoppelt.

Abbildung 46: Herstellung des Stators

6.1.1.1 Vorgehensweise zur Präparation des Antriebes

Um die Funktionselemente zu assemblieren sind die in Abbildung 47 aufgeführten Schritte notwendig.

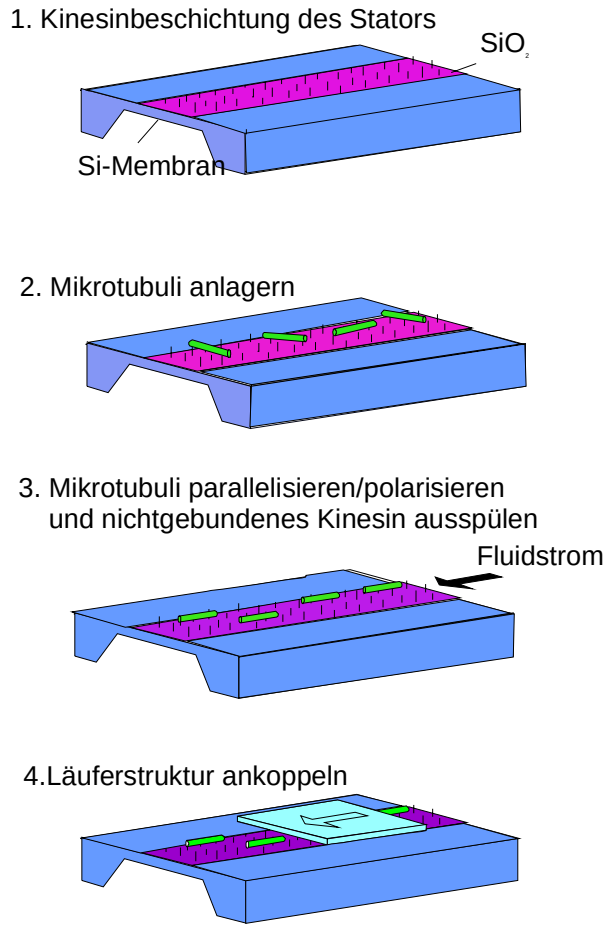
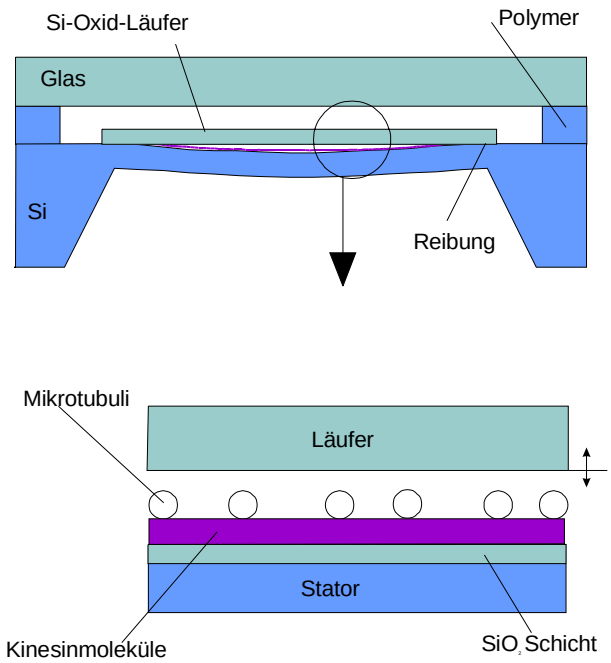


Abbildung 47: Arbeitsschritte

6.1.2 Start/Stop Steuerung



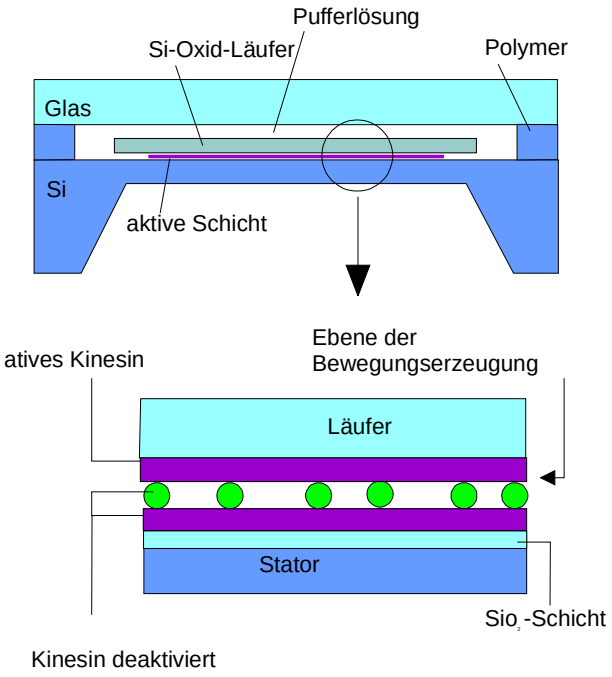
In Abbildung 48 ist der Mechanismus dargestellt, wie der Läufer in seiner Bewegung beeinflußt werden kann. Indem die Si-Membran nach unten ausgelenkt wird, kommt es zur großflächigen Entkopplung zwischen aktiver Schicht (Mikrotubuli) und Läufer und führt dadurch zum Stillstand des Transportes. Für die Auslenkung der Membran werden 2 Prinzipien angewandt. Beim 1. Prinzip wird davon ausgegangen, daß der Raum unterhalb der Membran hermetisch abgeschlossen ist. Durch Ändern der Druckverhätnisse des Mediums in der Kammer erreicht man eine Durchbiegung der Statorfläche (Membran).

Abbildung 48: Angesteuerte Membran

Das 2. Prinzip nutzt den reziproken piezoelektrischen Effekt eines auf der Unterseite der Membran befestigten Piezoaktors. Dadurch entsteht ein bimorphes System, welches sich durch Anlegen einer elektrischen Spannung durchbiegt. Mit dem 2. Prinzip können Schaltzyklen bis 10kHz erreicht werden.

6.1.3 Weitere Ausführungsvarianten

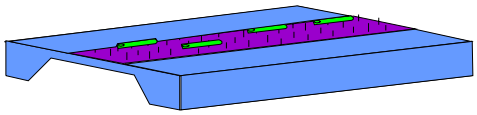
Variante B



Diese Ausführung unterscheidet sich von Variante A durch eine zusätzliche Kinesinschicht, die auf dem Läufer einseitig oder beidseitig angebracht ist. Das Läuferkinesin wirkt gemeinsam mit den Mikrotubuli auf dem Stator als bewegungsaktive Schicht. Das Statorkinesin ist nur während der Parallelisierung der Tubuli aktiv und wird danach deaktiviert, so daß es nur noch als Bindungsschicht zwischen Statoroberfläche und Mikrotubuli fungiert.

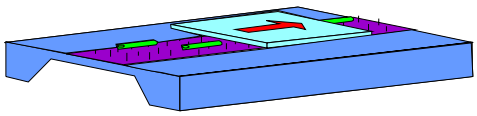
Abbildung 49: Schnittdarstellung

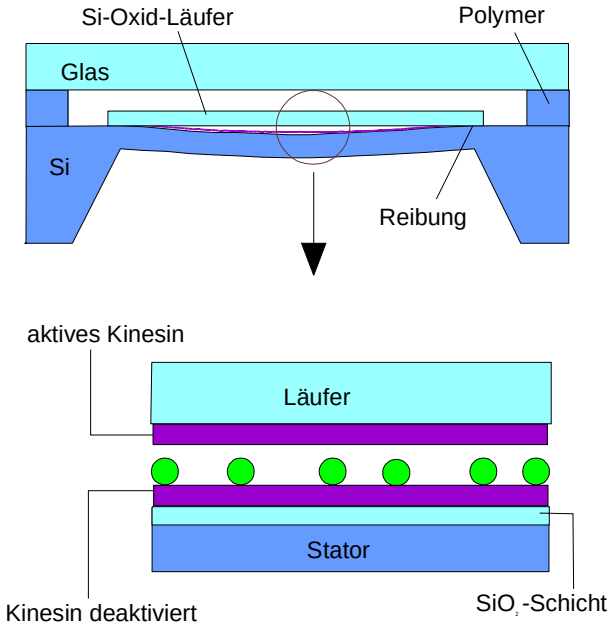
1. Kinesinbeschichtung des Stators
2. Mikrotubuli anlagern
3. Mikrotubuli parallelisieren/polarisieren
4. Bewegungsfähiglkeit deaktivieren



5. Kinesienbeschichtung des Läufers

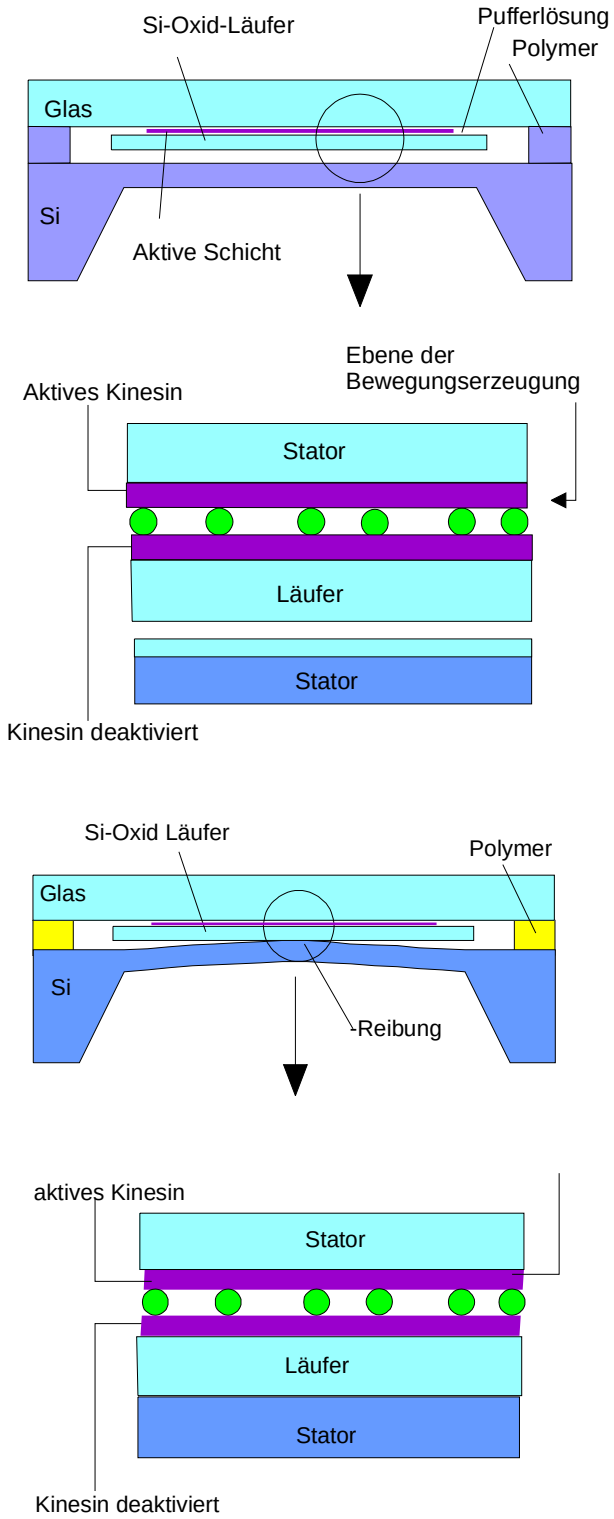
6. Läuferstruktur ankoppeln





Die Start-Stop-Steuerung dieser Anordnung ist identisch mit der von Variante A, mit dem Unterschied, daß die Kopplung zwischen aktiven Kinesin und Mikrotubuli unterbrochen bzw. hergestellt wird.

Variante C



Diese Option der Variante B unterscheidet ich, indem der Läufer nicht auf der Statormembran bewegt wird, sondern hängend an der oberen Kanalfläche.
Bei einer Durchbiegung der Membran in Richtung des Läufers wird dieser mechanisch gebremst bzw. die Bewegungsfreiheit der Kinesinmoleküle eingeschränkt (siehe Abbildung 50).

1. Kinesinbeschichtung des Läufers (Ein- oder beidseitig)
2. Mikrotubuli anlagern
3. Mikrotubuli parallelisieren / polarisieren
4. Bewegungsfähigkeit deaktivieren

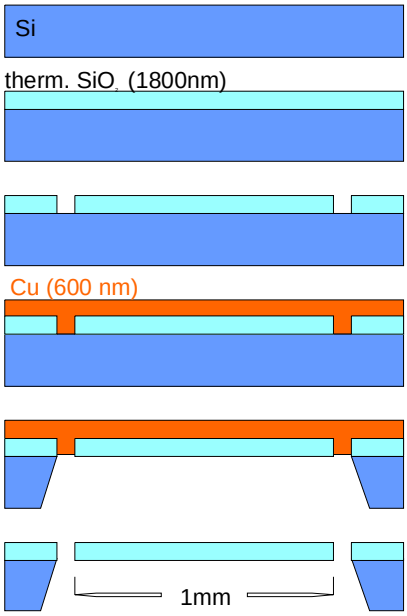
5. Kinesinbeschichtung des Stators (Deckglas oder Membran)

6. Läuferstruktur ankoppeln

Vorteil: ebene Läuferdrehung ändert die Bewegungsrichtung

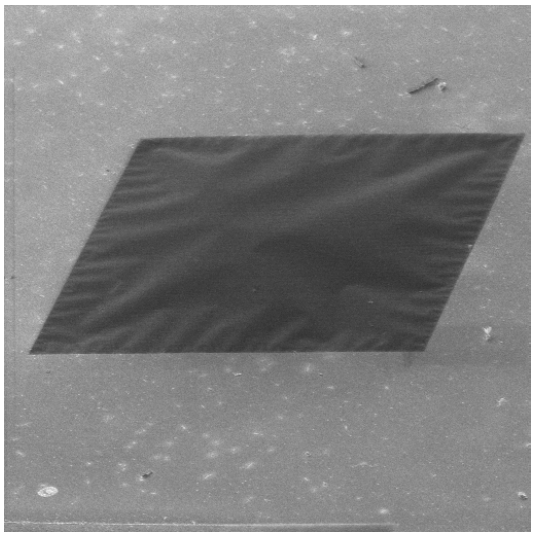
Abbildung 50: angesteuerte Membran Variante C

6.1.4 Läufertechnologie



Von entscheidender Bedeutung für die Funktion des beschriebenen Nanoantriebes ist die Art und Weise der Anbindung der Läuferstruktur an die aktive Schicht. Die Bindungsverhältnisse hängen stark von der Oberflächenbeschaffenheit (Rauhigkeit, Ebenheit, Material) der Kopplungsfläche ab. Für die Fertigung der Läuferstrukturen wurden 2 Verfahren genutzt. Beim Ersten (siehe Abbildung **51**) wurde ein thermisches Oxid durch Entfernen des Si-Substrates als quadratisches Plättchen freigelegt. Diese Plättchen waren mit hohen inneren Spannungen behaftet, die eine Verwölbung der Fläche zur Folge hatten. Außerdem waren aufgrund des Si-Ätzens Rauigkeiten entstanden, die die mikroskopische Abbildung der Struktur stark verfälschten.

Abbildung 51: Läufer-Technologie



Die zweite Methode der Erzeugung von dünnen Läuferplättchen beruht auf einem additiven Layer, welcher durch Elektronenstrahl- verdampfung von Quarz auf einen fotolithografisch bearbeiteten Si-Wafer aufgetragen wurde. Die nach einem Lift-Off-Prozeß entstandenen Läufer (siehe Abbildung 52) hatten Dicken von max. 500nm und waren wesentlich ebener, glatter und flexibler. Allerdings war das Handling derartiger Plättchen, insbesondere bei der Präparation nach Varianten B und C, sehr problematisch.

Abbildung 52: REM-Aufnahme einer frei tragenden Oxidschicht (0,5 x 0,5mm x 500nm)

6.2 Technische Anordung

Für erste Experimente zur Läuferankopplung und zum –transport wurde eine Vorrichtung konstruiert und aufgebaut, eine eindimensionale Linearbewegung inklusive Steuerung ermöglichte. Die Komponenten sind in Abbildung 53 dargestellt.

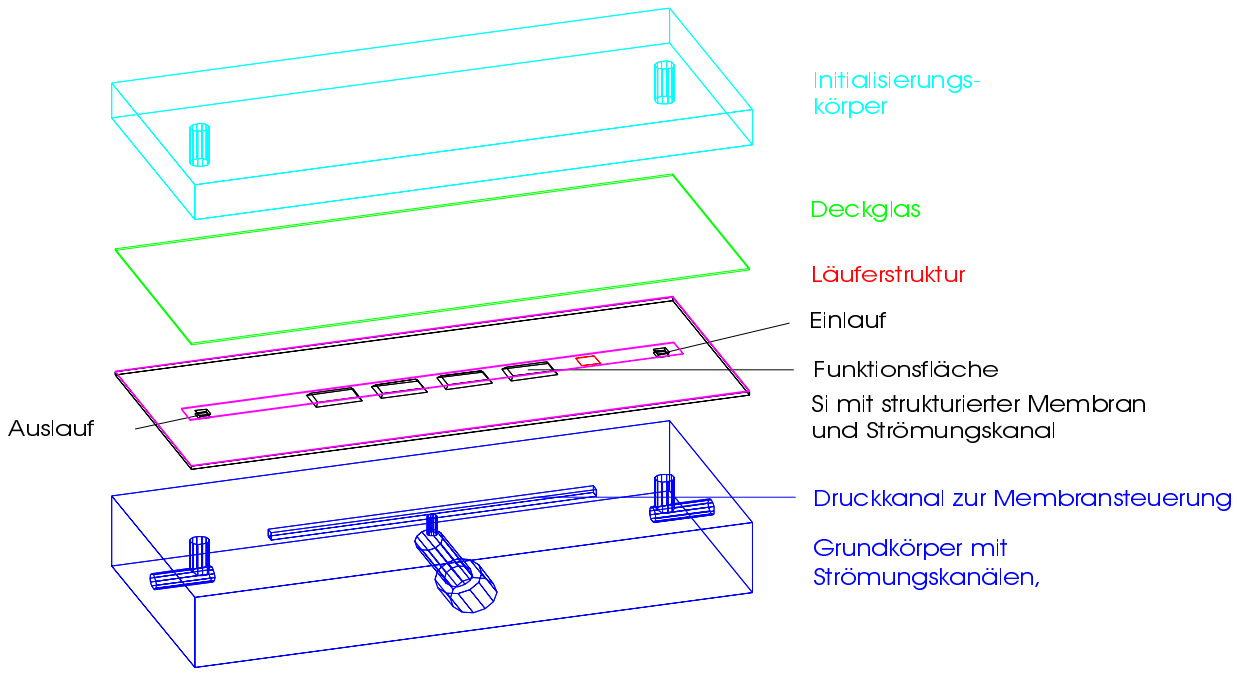


Abbildung 53: Vorrichtung zur linearen Bewegung (Explosivdarstellung)

6.3 Versuchsdurchführung, Auswertung

Im Verlauf des Projektes wurden Experimente mit der Vorrichtung zur 1D-Bewegung nach Variante A und Variante B durchgeführt.
Nach anfänglichen Montageproblemen konnten die Läuferstrukturen in den Strömungskanal eingebracht werden.
Bei der Beobachtung aller verwendeten Läuferstrukturen konnte jedoch keine gerichtete Bewegung festgestellt werden.
Eine eindeutige Ursache für dieses Verhalten konnte nicht ermittelt werden. Bei der Variante A wird vermutet, daß

1. die Verbindung zwischen Mikrotubuli und Läufer nur durch die Schwerkraft nicht ausreichend war oder
2. die Läuferstruktur nicht vollflächig von den Mikrotubuli getragen wurde und dadurch auf den Stator auflag wodurch die Reibung nicht überwunden werden konnte

Um die erste Ursache der Variante A auszuschließen wurde in der Variante B die Läuferankopplung über eine zweite Kinesinschicht vorgenommen.
Da auch in diesem Versuch kein Transport zustandekam lag möglicherweise eine gegenseitige Beeinflussung (verhaken der Moleküle zwischen aktiver und inaktiver Schicht) vor.

6.3.1 Alternativen

Aufgrund der negativen Ergebnisse mit planaren Läuferstrukturen wurden Experimente mit den Ausführungsvarianten A und B mit anderen geometrischen Formen von Lasten durchgeführt. Ziel dieser Versuche war gleichzeitig eine Reduzierung der geometrischen Abmessungen des Läufers insgesamt bzw. der effektiven Koppelflächen am Läufer.

Natronwasserglaslinsen

Diese Strukturen wurden durch zerstäuben von 0,5 – 2 % iger Natronwasserglaslösung auf einer entfernbaren Lackschicht hergestellt. (siehe Abbildung 54) Die so entstandenen linsenförmigen Blättchen mit einer Dicke von weniger als 1µm und einem Durchmesser von

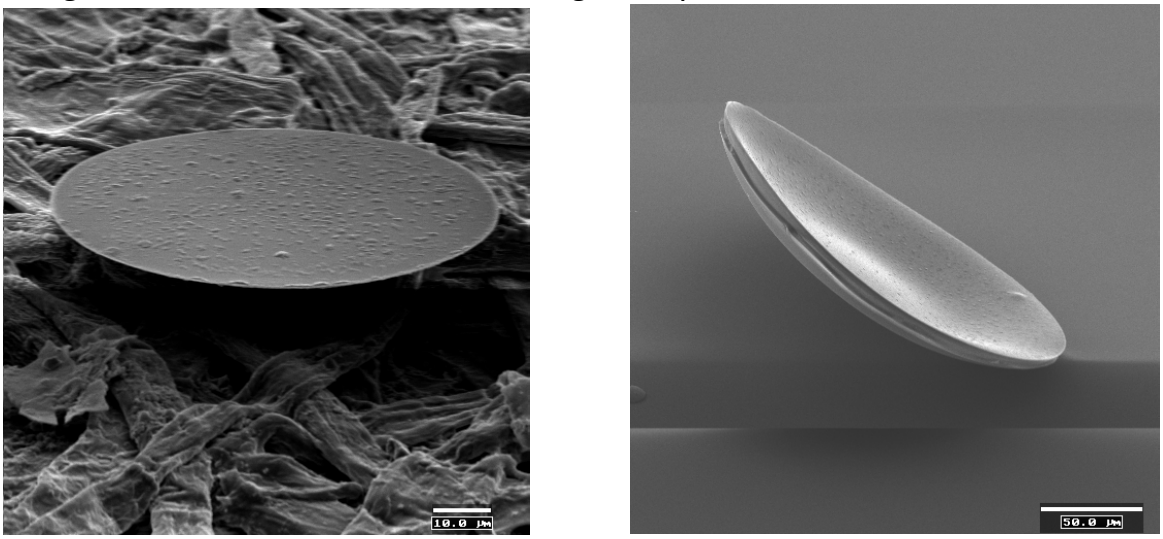


Abbildung 54: linsenförmige Abscheidung von Natronwasserglas

ca. 300µm wurden mit der konvexen Seite auf dem Bewegungsassay plaziert. Dadurch sollte sichergestellt werden, daß eine definierte Koppelfläche verfügbar ist.
Auch mit diesem Aufbau konnten keine besseren Ergebnisse als in den Versuchen mit planaren Läufen erzielt werden.

Quarzpuder

Weitere Transportversuche mit Quarzpartikeln mit einer Größe von ca. 10 nm durchgeführt. Wie in Abbildung 55 ersichtlich, tritt eine Verklumpung der Nanopartikel zu Mikropartikeln bis zu 50µm ein.

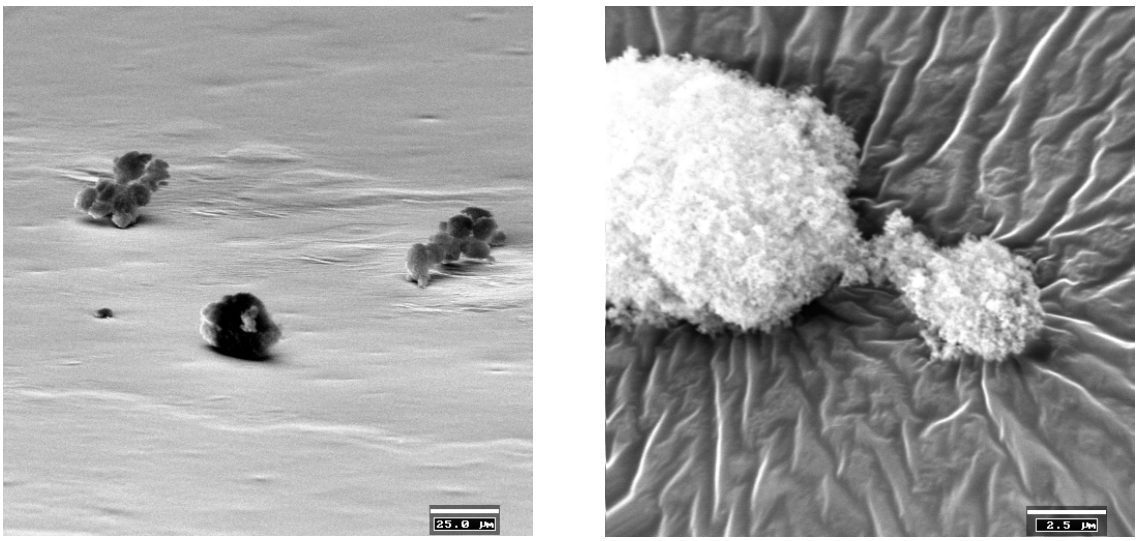


Abbildung 55: Siliziumdioxidpuder

Nach Zugabe von Quarzpuder in das Bewegungsassay lagerte sich dieses an die Mikrotubuli an und einzelne Mikropartikel wurden bewegt.
Daraus kann man schließen, daß die Ankoppelflächen (Nanoquarzpartikel als poröse Struktur in Abbildung 55 rechts erkennbar) möglichst klein gestaltet werden müssen. Die Koppelstelle an der „Last“ sollte sich in der gleichen Größenordnung befinden wie die Größe der Kinesinmoleküle.

Definierte Rauhigkeit

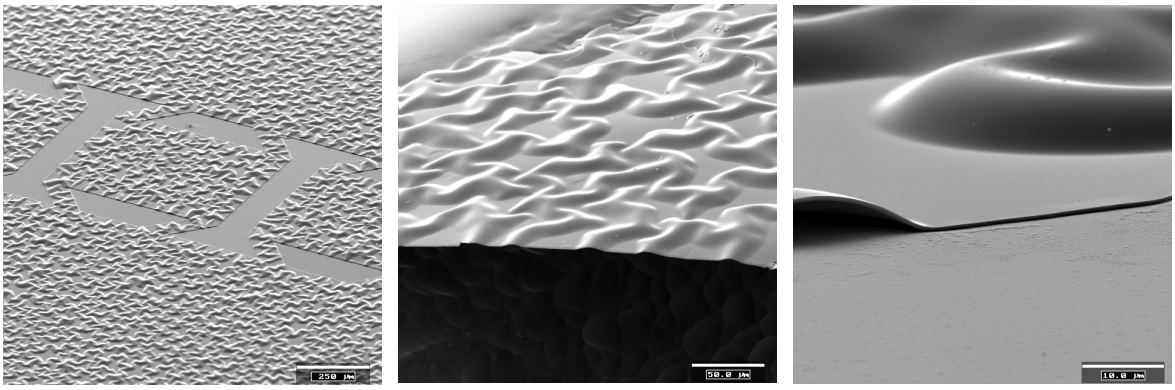
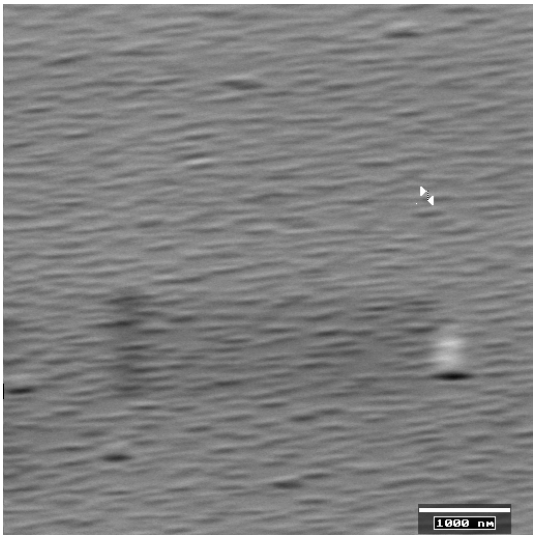


Abbildung 56: Spannungverwerfungen

Die Schlußfolgerung aus dem oben genannten Ergebnis stellt eine Kombination von planarem Läufer und punktuellen Koppelstellen dar. (siehe Abbildung 56) zeigt die Struktur eines 500nm dicken Läuferplättchens, welche durch die gezielte Erzeugung von inneren Spannungen im Material geformt wurde. Dazu wurde die Technologie zum Abscheiden von SiO_2 mittels Elektronenstrahlverdampfung modifiziert.
Versuche zur Ankopplung dieses Materials als Last führten nicht zu den erwarteten Ergebnissen.

Goldfilm



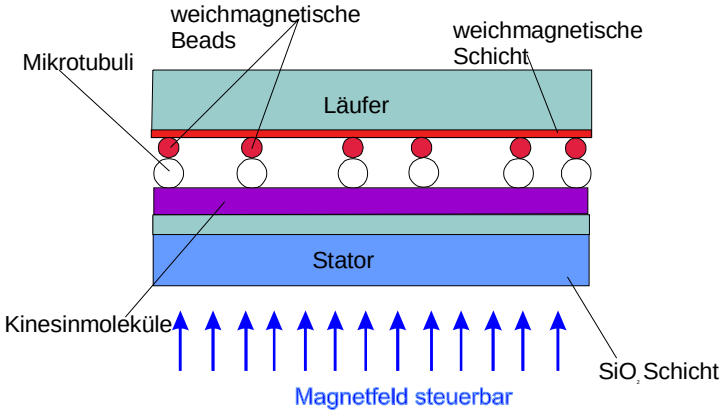
Da vermutlich die Spannungsverwerfungen eine zu große Welligkeit aufwiesen und die Bewegung nicht funktionierte, wurde versucht feinere Oberflächenstrukturen als Koppelpunkte zu nutzen. Favorisiert wurden aufgedampfte Goldschichten, deren Oberflächenrauhigkeit im Nonometerbereich liegt (siehe Abbildung 57).
Gold besitzt außerdem sehr gute Bindungseigenschaften für Mikrotubuli.

Die Lasten aus Goldfilm bis zu einer Größe von $0{,}5mm^2$ konnten nicht so an die Mikrotubuli gekoppelt werden, daß eine Bewegung stattfand.

Abbildung 57: Goldschicht 200 nm

7. Ausblick

7.1 Ausführungsvariante D

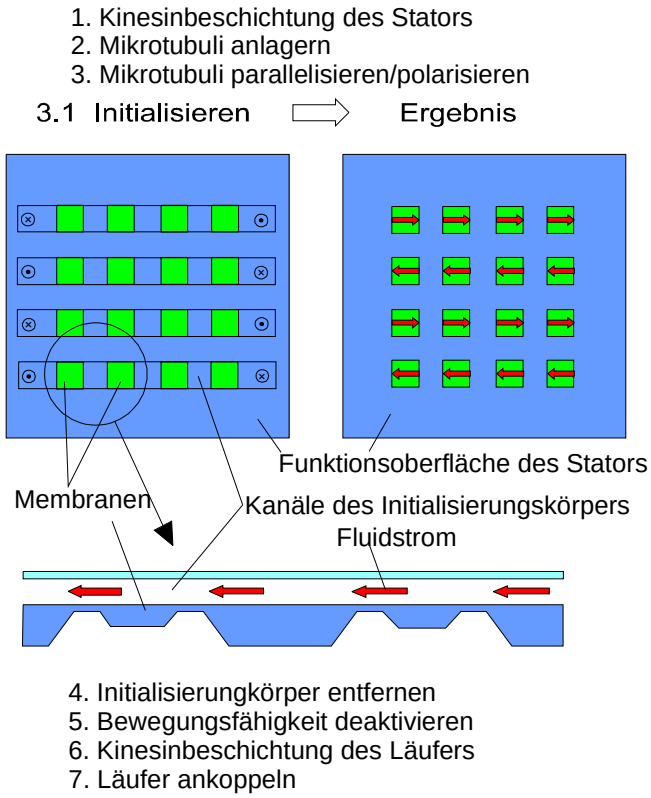


Bei dieser Variante koppelt man weichmagnetische Beads mit den Mikrotubuli. Die Grundlage bilden die Experimente zur Kraftmessung mittels Magnetbeads. Auf dem Läufer befindet sich eine weichmagnetische Schicht.
Auf dem Stator befindet sich aktives Kinesin. Nach dem Parallelisieren und Polarisieren der Mikrotubuli auf dem Stator, wird der Läufer durch die Änderung eines äußeren Magnetfeldes an die Magnetbeads gezogen und dadurch in das Bewegungssystem ein- oder ausgekuppelt. Für die Start-Stop-Steuerung dieser Variante werden keine mechanisch bewegten Teile benötigt.

7.2 Kaskadierung des Nanoantriebes

7.2.1 Eindimensionale Kaskadierung

Aufbau und Arbeitsschritte zur Präparation



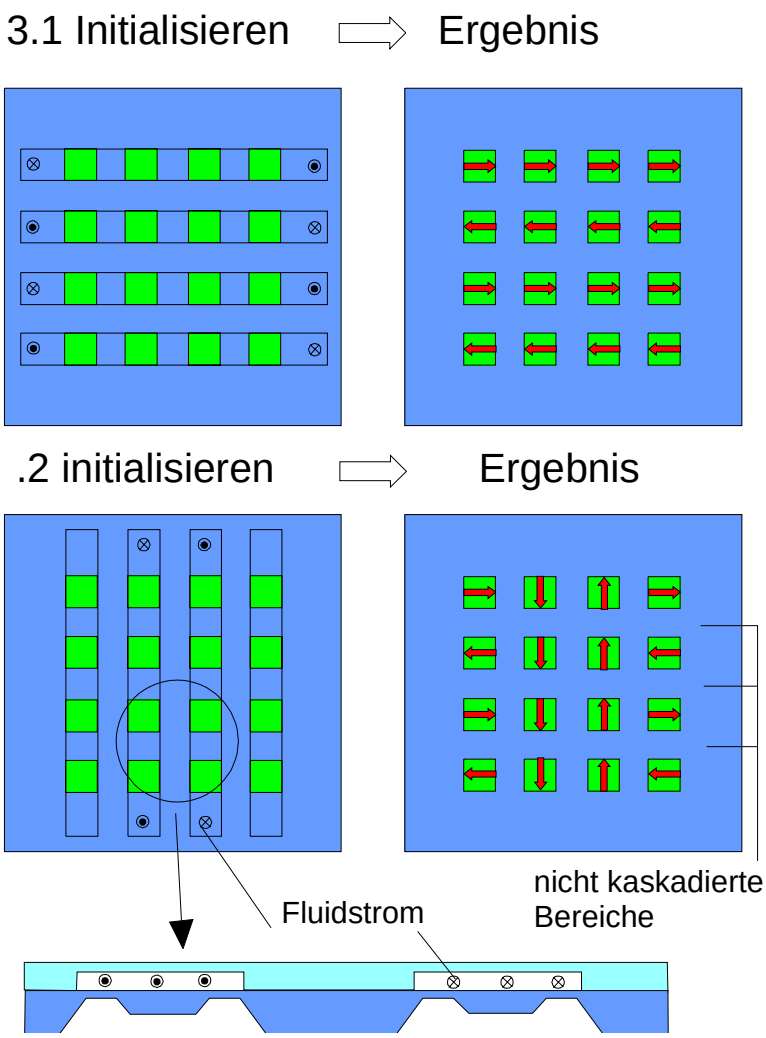
Ananolg zu Aufbau und Funktion der in Abschnitt 6.1 beschriebenen Anordnungen wird die Kaskadierung des Antriebskonzeptes realisiert, indem mehrere Transportkanäle verschiedener Orientierung in einer Ebene angeordnet werden. (siehe Abbildung 58) Mit Hilfe eines Initialisierungskörpers, der über den Stator positioniert wird und die Strömungskanäle beinhaltet werden bestimmte Gruppen von Mikrotubuli auf dem Statorkinesin definiert, und mit einer Fluidströmung parallelisiert und polarisiert (entsprechend Pfeilrichtung). Die nach der Initialisierung aufgelegte Läuferstruktur überstreicht eine Vielzahl von verschieden orientierten Antriebselementen (mindestens 3 Elemente einer Orientierung).

Abbildung 58: Arbeitsschritte

Start-Stop und Richtungs-Steuerung

Unter den so ausgerichteten Bereichen der Funktionsfläche befinden sich Membranen, die einzeln oder in Gruppen nach oben oder nach unten ausgelenkt werden können und damit die richtungsorientierten Mikrotubuli zum Läufer in Eingriff bringen. Auf diese Weise kann sowohl der Start Stop-Betrieb als auch ein Wechsel des Richtungssinns ausgeführt werden. Der Rasterabstand der Membranmatrix sollte etwa 50...250 µm betragen.
Wenn alle Membranen außer Eingriff zum Läufer sind, liegt dieser auf den nichtorientierten bzw. entgegengesetzt orientierten Bereichen der Funktionsfläche auf. Demzufolge heben sich die Kräfte am Läufer auf und es kommt zum Stillstand.
Der Verfahrweg des Läufers wird durch die Flächengröße der des Stators festgelegt, d.h. die in Abbildung 58 dargestellten Bereiche können beliebig aneinandergereiht werden.

7.2.2 Zweidimensionale Kaskadierung



Als Erweiterung der 1-D-Kaskadierung ist die 2-D-Kaskakadierung in

Abbildung 59 zu verstehen.
Nach Ausführung des Arbeitsschrittes 3.1 wird ein weiterer Schritt 3.2 ausgeführt.
In diesem wird der Initialisierungskörper um 90° gegenüber der Position in Arbeitschritt 3. 1 gedreht und die Fluidströmung entsprechend der Pfeilrichtungen angelegt. Im Ergebnis entstehen Bereiche orthogonal zueinander ausgerichteter Mikrotubuli, die in Pfeilrichtung polarisiert sind.
Durch Ansteuerung von bestimmten Membrangruppen ist es möglich die Läuferstruktur in jede Richtung der Ebene zu bewegen.

Abbildung 59: 2-D-Initialisierung

7.3 Technische Anordnung zur zweidimensionalen Steuerung

Abbildung 60 zeigt eine mögliche Ausführung eines 2-Koordinaten Nanoantriebes. Die Funktionsfläche auf dem Si-Wafer wird, wie in Punkten 7.2.1 beschrieben, beschichtet und laut Punkt 7.2.2 initialisiert. Anschließend wird der Läufer angekoppelt. Die Membranen werden von der Unterseite des Wafers über Druckkammern im Grundkörper gesteuert. Durch einen Rahmen auf dem Grundkörper wird der Bewegungsbereich begrenzt und die Pufferlösung zur Versorgung des Assay‘s aufgenommen. Auf dem Läufer können, je nach Anwendung, weitere Lasten montiert werden.

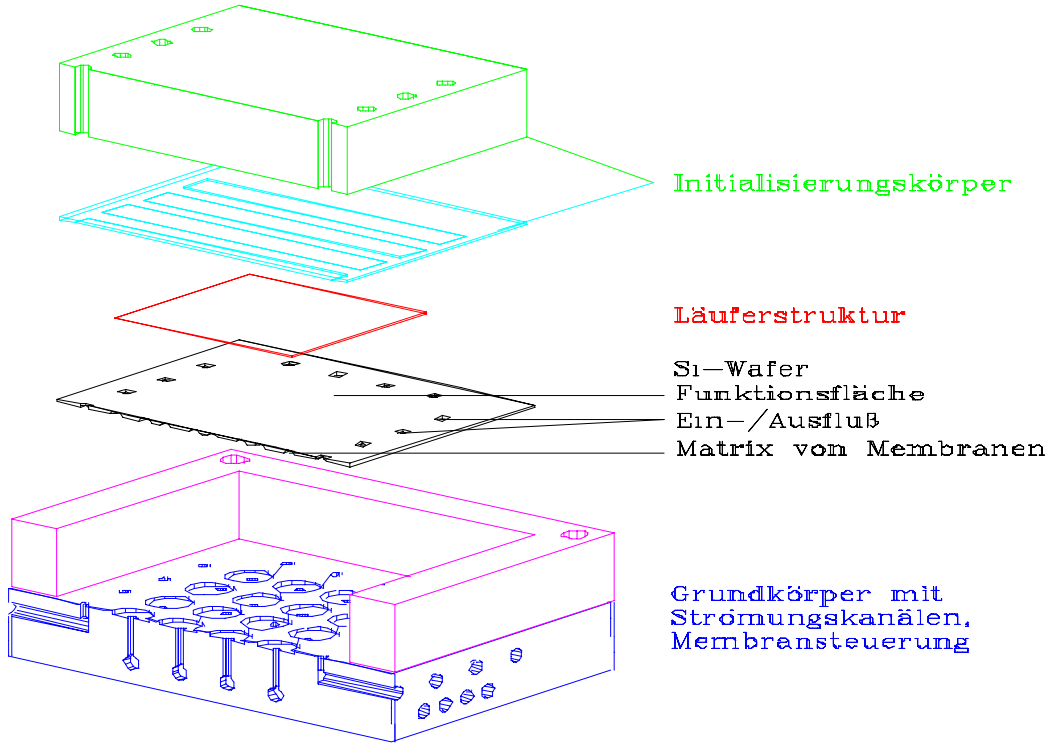


Abbildung 60: Vorrichtung zur flächenhaften Bewegung (Explosivdarstellung)

8. Zusammenfassung

Aus den bisherigen Untersuchungen während der Projektbearbeitung resultieren grundlegende Erkenntnisse zum Bewegungsverhalten von mikrotubuliassoziierten Motorproteinen, insbesondere von Kinesin und Tubulin (MT). Aus diesen Ergebnissen und dem internationalen Forschungsstand kann das Anforderungsprofil bezüglich der Nutzung der Bewegungsenergie in einem technischen Gebilde abgeleitet werden [10]. Aus technischer und technologischer Sicht lassen sich die relevanten Eigenschaften der Moleküle wie folgt zusammenfassen.

1) Das Bewegungsassay besteht makroskopisch betrachtet aus einer ebenen, starren Fläche in wäßriger Lösung
2) Kinesinmoleküle bewegen sich auf an Flächen gebundenen MT spurtreu entlang, Lasten werden am Kinesin gekoppelt und transportiert
3) MT bewegen sich in Längsrichtung spurtreu auf Kinesin-beschichteten Flächen
4) Die Umkehrung der polarbezogenen Bewegungsrichtung von Kinesin (zum +Ende des MT) ist nicht nachgewiesen
5) Beeinflussung der Bewegungsrichtung ist durch Orientierung der MT-Längsachse möglich

6) Eine effektive Orientierung der Mikrotubuli in Richtung und Richtungssinn wird nur mittels fluidischer Strömung in der Bewegungsebene erzielt
7) Zur Erzeugung von Strömungen sind ultraschallinduzierte Oberflächenwellen nutzbar
8) Die Umorientierung der MT erfolgt nur im bewegungsaktiven Assay (in Anwesenheit von Kinesin + Kofaktoren)
9) In einem Kanal laminarer Fluidströmung werden MT nahezu parallel zueinander orientiert
10) Die Fortbewegungsrichtung der MT entspricht der Richtung der Fluidströmung
11) Nach der Orientierung lassen sich die Position und Ausrichtung der MT auf der Fläche chemisch fixieren
12) Kinesin und Mikrotubuli können unabhängig voneinander auf verschiedenen Substraten angelagert werden
13) Kinesin und MT können sowohl getrennt als auch aneinandergekoppelt zeitlich stabilisiert werden
14) Die Anzahl von Motor- und Strukturproteinen pro Flächeneinheit kann variabel eingestellt werden.
15) Die Bewegungsgeschwindigkeit ist proportional zur Temperatur und Konzentration von bestimmten Kofaktoren
16) Die Laufgeschwindigkeit verringert sich bei Einengung des Bewegungsfreiheit
17) Die Änderung von Kofaktoren ermöglicht keine ausreichend schnelle Schaltzeit von Start/Stop
18) Der Betrag der Blockierkraft eines Mikrotubulus war mit den angewandten Meßmethoden nicht bestimmbar
19) Zur Messung von Bewegungskräften an MT sind mechanische Prinzipien auszuschließen
20) Transportkräfte (Blockierkraft) lassen sich mit Hilfe von geeigneten Probekörpern (Magnetbeads) und einem definierten Magnetfeld quantitativ erfassen
21) Kugelförmige Lasten sind bis zu einem Durchmesser von ca. 2µm entlang von MT zu bewegen
22) Flächenhafte Lasten konnten nicht gerichtet transportiert werden
23) Eine chemische Anbindung der Last an Mikrotubuli ist unumgänglich
24) Punkförmige Kopplungsstellen sind geeigneter als linien- oder flächenhafte
25) Eine parallele Kaskadierung von gleichorientierten MT-beschichteten Antriebselementen ist durch Ankopplung eines Läufers (Wirkelement) an viele Antriebselemente möglich
26) Die matrixartige, planare geometrische Anordnung von Antriebselement-Gruppen gestattet eine einfache konstruktive Gestaltung eines Nanomotors
27) Die Montage von Stator und Läufer eines Nanomotors ist durch geeignete Technologien zur Integration aller Komponenten zu vermeiden

Literatur:

[1] Coppin CM,Pierce DW, Hsu L, Vale RD ,“The Load depence of kinesin’s mechanical cycle“ Proc Natl Acad Sci, USA 1997 Aug 5

[2] Kuo SC, Ramanathan K, Sorg B, Biophys. J 1995 Apr.

[3] Prof. Dr. Ing. F.X. Eder „Moderne Meßmethoden der Physik“ , Band 3 Deutscher Verlag der Wissenschaften 1972

[4] S. B. Schmith, L. Finzi, C. Bustamante; "Direct Mechanical Measurement of the Elasticity of Single DNA Molecules by Using Magnetic Beads"; SCIENCE Vol. 258/1992

[5] Taschenbuch „Technische Stoffe“

[6] Vater, Böhm, Unger 1997 „Tubulin assembly in the presence of calcium ions and taxol Cytoskel“ 36:76-83

[7] E. Philippow „Grundlagen der Elektrotechnik“, Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig KG, Leipzig 1976
[8] H. Frohne, „Elektrische und Magnetische Felder“, B.G. Teubner Stuttgart 1994
[9] R.Boll „Weichmagnetische Werkstoffe“, Vakuumschmelze GmbH Hanau 1990
[10] E. Unger, Jahresbericht 1997 „Zellfreier biomolekularer Nanomotor“, IMB Jena

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart **Schlußbericht**

3a. Titel des Berichts

Konzipierung und Untersuchung technischer Voraussetzungen linearmotorischer Nanometer-Antriebssysteme auf der Basis mechanochemischer Proteine vom Kinesintyp

3b. Titel der Publikation

4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) **Dipl.-Ing. Jörg Burgold** **Dipl.-Ing. Hans-Joachim Schacht**	5. Abschlußdatum des Vorhabens **31.03.1999**
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n))	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) **Technische Universität Ilmenau** **Max Plank-Ring 12** **Fakultät für Maschinenbau** **Institut für Mikrosystemtechnik, Mechatronik und Mechanik** **Fachgebiet Mikromechanik** **98693 Ilmenau**	9. Ber.Nr. Durchführende Insitution
	10. Förderkennzeichen *) **0311370**
	11a. Seitenzahl Bericht **64**
	11b. Seitenzahl Publikation
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	12. Literaturangaben **10**
	14. Tabellen
	15. Abbildungen **60**

16. Zusätzliche Angaben

17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)

18. Kurzfassung

Motorproteine (vorzugsweise Kinesin) und Strukturproteine (Tubulin) besitzen Eigenschaften der mechanochemischen Energiewandlung , die zum Transport von Lasten genutzt werden. Dabei sind Wege mit Einzelschritten von 8nm erreichbar, welche mit konventionellen mechanischen Funktionsgruppen durch aufwendige mechanische oder elektronische Maßnahmen nur sehr schwer erreichbar sind. Biomakromolekülsysteme werden derzeit aus Zellen isoliert und in vitro rekonstruiert, beobachtet und charakterisiert.

Das Projekt dient zur Lösung von Problemstellungen, die sich bei der Zusammenführung des biologischen Wirkprinzips mit technischen Vorrichtungen und Applikationen ergeben.

Ziel ist, einen biomechanischen Nanoaktor zu entwickeln, der translatorische Bewegungen von Lasten mit hoher Positioniergenauigkeit ausführen kann. Dazu sind Kaskadierungsmöglichkeiten, Kraftgeneration, Steuerungsprinzipien und Bewegungsparameter zu untersuchen sowie mikromechanische Technologien anzuwenden.

Im Projekt wurde dargestellt, daß es grundsätzlich möglich ist ein Kopplung von Motorproteinen mit technischen Systemen zu realisieren. Neben der Entwicklung von speziellen Mikrostrukturen wird gezeigt, wie ein solcher „Proteinmotor“ aufgebaut sein könnte. Das Projekt hat viele Probleme offengelegt, die eine weiterführende Beschäftigung mit dieser Problematik notwendig erscheinen lassen, insbesondere die Kopplung der technischen Strukturen an die biologischen Komponenten betreffend.

19. Schlagwörter

Nanomotor, Nanoantrieb, Motorprotein, Kinesin, Mikrotubuli, Kraftmessung, Magnetbead, Siliziumstrukturen

20. Verlag	21. Preis

*) Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden

BMBF-Vordr. 3831/03.99

Technische Universität Ilmenau
Max Plank-Ring 12
Fakultät Maschinenbau
98693 Ilmenau

Forschungszentrum Jülich GmbH
Projektträger BEO
PF 1913
52428 Jülich

Erfolgskontrollbericht

Thema: **Zellfreier biomolekularer Nanoaktor**

Teilprojekt 2: **Konzipierung und Untersuchung technischer Voraussetzungen linearmotorischer Nanometer-Antriebssysteme auf der Basis mechanochemischer Proteine vom Kinesintyp**

Projekt-Nr. 0311370

Projektleitung : Prof. Dr.-Ing. H. Wurmus

Institut für Mikrosystemtechnik, Fakultät für Maschinenbau, Universität Ilmenau

Max Plank-Ring 12 Telefon: (03677) 692487
98693 Ilmenau Telefax: (03677) 691802

im Verbund mit:

Institut für Molekulare Biotechnologie, Jena
Beutenbergstr. 11 Postfach 100813
07745 Jena / Thüringen 07708 Jena/Thüringen

Institut für Mikrobiologie und Molekularbiologie, Universität Gießen
Frankfurter Str. 107
35392 Gießen

Institut für Mikrobiologie Universität Düsseldorf
Universitätsstr. 1
40225 Düsseldorf

Zeitraum der Förderung
01.02.1997-31.03.1999

Das Projekt stand im direkten Zusammenhang mit dem BMBF-Programm „Biotechnologie 2000“, dem Fördergebiet „Biomolekulare Funktionssysteme für die Technik“ und betrifft die Forschungsgebiete (biologische Prinzipien und deren Nutzung in der) Nanotechnologie, Nanoaktorik und Nanostrukturierung.

Im Rahmen des Projektes wurden Untersuchungen zur Strukturierung von Silizium sowie zu Dünschichttechnologien verschiedener metallischer und nichtmetallische Materialien und deren Strukturierung im Submikrometerbereich durchgeführt. Die erzielten Ergebnisse bilden die Grundlage für die Verbindung von biologischen und technischen Systemen sowie deren Probleme und Lösungen bei der technischen Umsetzung. (Abschußbericht Abschnitt *3.2 Materialien und Oberflächenbeschaffenheit* und 5.2.*1 Bewegung an Hindernissen*)

Im Bereich der Nanoaktorik wurden erste Vorstellungen zu Funktionsprinzipien von Baugruppen mit Motorproteinantrieb entwickelt, welche auf der Basis von bekannten Technologien der Mikro- und Nanostrukturierung hergestellt werden können. Die dazu notwendigen Steuerungsmechanismen wurden analysiert und in die Baugruppen intergriert. (Abschußbericht Abschnitt *6 Grundkonzept für einen Nanoantrieb*)
In die Betrachtungen wurden sowohl ein- wie auch zweidimensionale Linearbewegungen einbezogen. (Abschußbericht Abschnitt *7.2 Kaskadierung des Nanoantriebes*)
Aus den Untersuchungen konnten wissenschaftliche Erkenntnisse für die Vorgehensweise zur weiteren Bearbeitung der Umsetzung von Antriebsprinzipien auf Motorproteinbasis, insbesondere Kinesin/ Tubulin und technischen Systemen gewonnen werden. Aufgrund der Komplexität der beteiligten Komponenten in einem konzipierten Antriebssystem und der Spezifik des Handlings dieser, konnte der Nachweis der Transportfunktion nicht zufriedenstellend erbracht werden.

Die Erfahrungen beim Umgang mit den biologischen Substanzen haben gezeigt, daß es bei der Konstruktion mechanochemischer Antriebssysteme einer anderen Herangehensweise bedarf. Durch die Verwendung lebender Materie als Antriebs- und Übertragungselemente sind konventionelle Konstruktionsstrategien nicht ohne applikationsadaptierte Präzisierung anwendbar. (eingeschränkter Bauraum und Arbeitstemperaturbereich, aufwendige Beobachtungstechnik).
In vielen Fällen war es notwendig, technologische Grundlagen zur Herstellung und zum Handling der an die Makromoleküle anzukoppelnden Strukturen zu schaffen. Aus diesem Grund verschoben sich die Arbeitsschwerpunkte verstärkt in Richtung technologischer Entwicklungsleistungen, die zu einer kostenneutralen Verlängerung der Projektbearbeitungszeit führten.

Einen weiteren Schwerpunkt im Projekt stellt die Ermittlung von Bewegungskräften dar. Aufgrund der zu erwartenden Kräfte der verwendeten Komponenten (Mikrotubu-

li) scheiden direkte (taktile) Verfahren zur Kraftmessung aus. Alternative, indirekte Kraftmeßverfahren beruhen auf der Ankopplung von magnetischen Probekörpern an das Meßobjekt, welche durch ein Magnetfeld beeinflußt werden.
Dazu wurden die theoretischen Grundlagen erarbeitet und Vorrichtungen zur Realisierung aufgebaut sowie erste Tests zur qualitativen Beurteilung der Meßverfahren durchgeführt. (Abschlußbericht Abschnitt *4 Ermittlung der Bewegungskraft*).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß dieses Projekt die Kopplung zwischen biologischen und technischen Komponenten grundlegend beleuchtet und viele Probleme offengelegt hat, die eine weiterführende Beschäftigung mit dieser Problematik notwendig erscheinen lassen.