

# **Optische Pinzette**

Michael Gutnikov  
michael.gutnikov@udo.edu

Lasse Sternemann  
lasse.sternemann@udo.edu

Abgegeben am 29.07.2022

# **Inhaltsverzeichnis**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 Auswertung</b>  | <b>3</b>  |
| 1.1 Untersuchung von Quarzkügelchen . . . . .                | 3         |
| 1.1.1 Kamerakalibrierung . . . . .                           | 3         |
| 1.1.2 Kalibrierung der Photodiode . . . . .                  | 4         |
| 1.1.3 Kalibrierung der Falleneigenschaft . . . . .           | 7         |
| 1.2 Untersuchung des Vesikeltransports in Zwiebeln . . . . . | 13        |
| <b>2 Diskussion</b>  | <b>17</b> |

# 1 Auswertung

## 1.1 Untersuchung von Quarzkügelchen

### 1.1.1 Kamerakalibrierung

Das in Abbildung 1 per optischer Pinzette eingefangene Quarzkügelchen wird genutzt, um das Zentrum der optischen Falle (gelber Kreis) in der Kamersoftware zu markieren. Über den rot eingezeichneten Durchmesser von 65 Pixeln wird mithilfe des mittleren Durchmessers  $\bar{d}$  eines Quarzkügelchens von  $2,06 \mu\text{m}$  eine Pixelgröße im Realraum von

$$1 \text{ px} = \frac{2,06 \mu\text{m}}{65} \approx 0,03169 \mu\text{m}$$

berechnet.

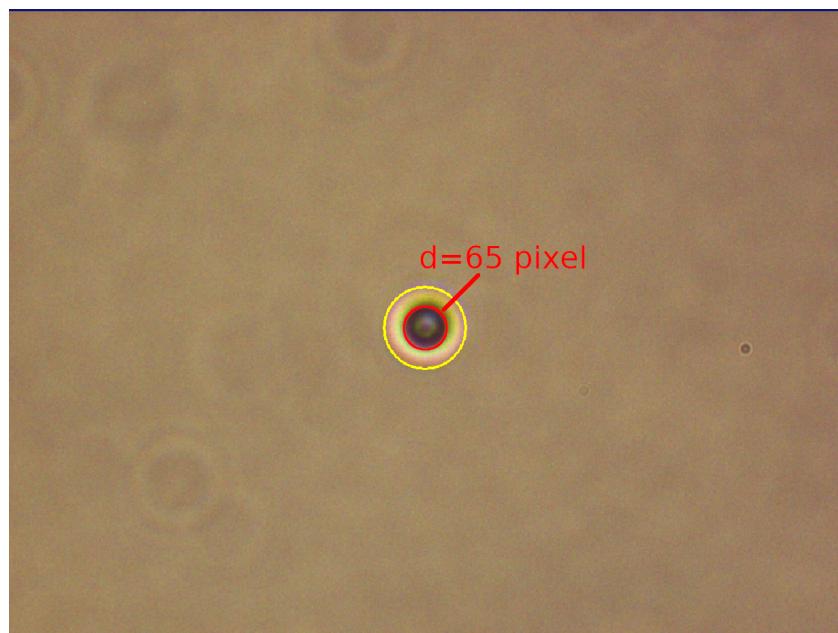


Abbildung 1: Abbildung eines in der optischen Falle (gelber Kreis) eingefangene Quarzkügelchens (roter Kreis).

### 1.1.2 Kalibrierung der Photodiode

Die zur Kalibrierung der Photodiode aufgenommenen S-Kurven sind exemplarisch für eine Laserleistung von 4,83 mW in einem Screenshot des Programms 2 für die x- und y-Achse dargestellt. In diesem Screenshot sind auch die per Programm berechneten und in Grafik 3 gegen die Laserleistung aufgetragenen Konversionsfaktoren der beiden Achsen eingetragen.

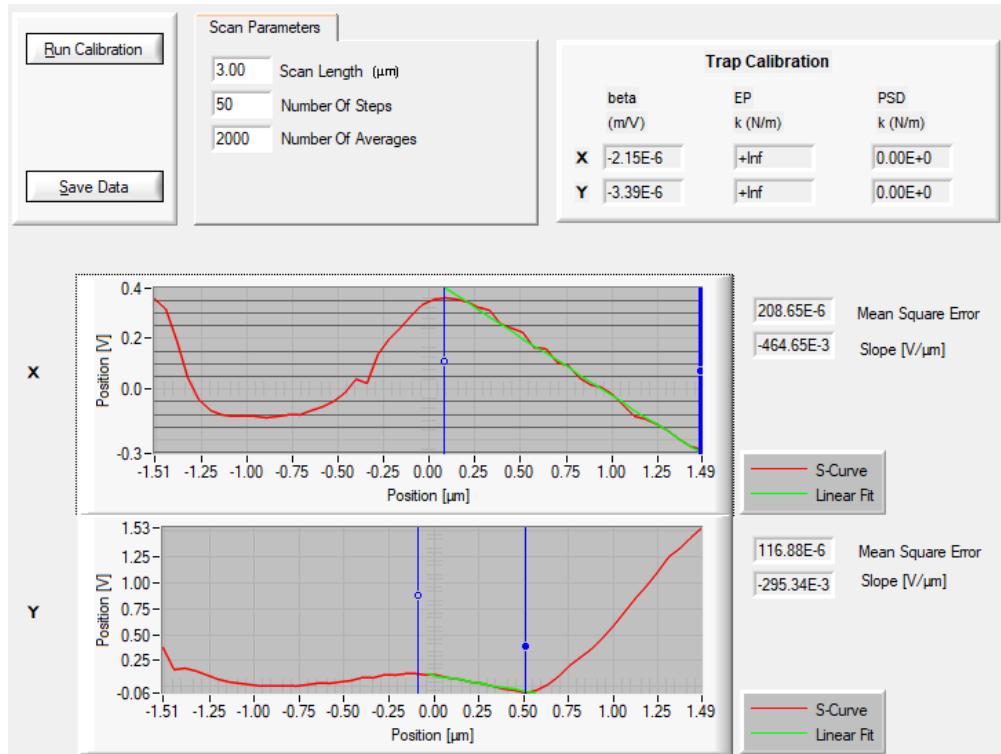


Abbildung 2: Abbildung einer aufgenommenen S-Kurve bei einer Laserleistung von 4,83 mW zur Kalibrierung der Konversionsfaktoren.

Daraus ergeben sich die Mittelwerte der Konversionsfaktoren

$$\overline{K_x} = 0,41 \frac{\text{V}}{\mu\text{m}} \quad \overline{K_y} = 0,27 \frac{\text{V}}{\mu\text{m}},$$

die zur Berechnung der Position eines eingefangenen Objekts durch die von der Vier-Segment-Diode gemessenen Spannung benötigt werden.

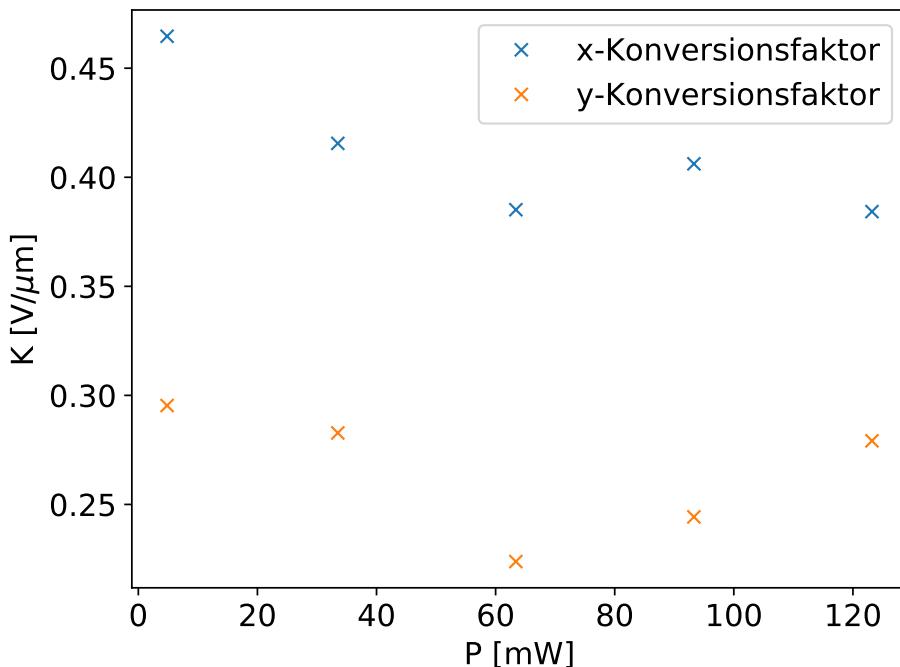


Abbildung 3: Die für beide Achsen gemessenen Konversionsfaktoren bei unterschiedlichen Laserleistungen.

Das in Abhängigkeit des z-Piezo-Werts aufgenommene Diodensummensignal bei einem festen Quarzkügelchen ist in Abbildung 4 aufgetragen. Der Verlauf der Kurve entspricht dem nach Abbildung REF ZU THEORIE zu erwartenden Anstieg in der Umgebung des Streumaximus und bestätigt, dass ein festes Quarzkügelchen vermessen wurde.

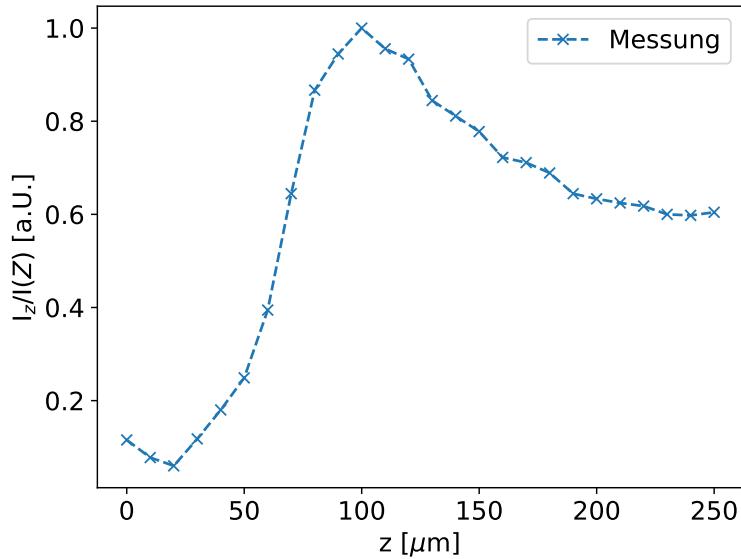


Abbildung 4: Das gemessenen Diodensummensignal gegen die z-Position der optischen Falle im Bereich um das Streumaximum hier bei circa 100  $\mu\text{m}$ .

### 1.1.3 Kalibrierung der Fallensteifigkeit

Der letzte Schritt der Kalibrierung, umfasst die Bestimmung der Fallensteifigkeiten  $k_x$  und  $k_y$  für beide Achsen.

Für die Kalibrierung ohne externe Krafteinwirkung wird die spektrale Leistungsdichte (PSD) genutzt, die im Screenshot 5 für beide Achsen bei einer Laserleistung von 63,4 mA dargestellt ist und direkt aus dem Programm exportiert werden kann.

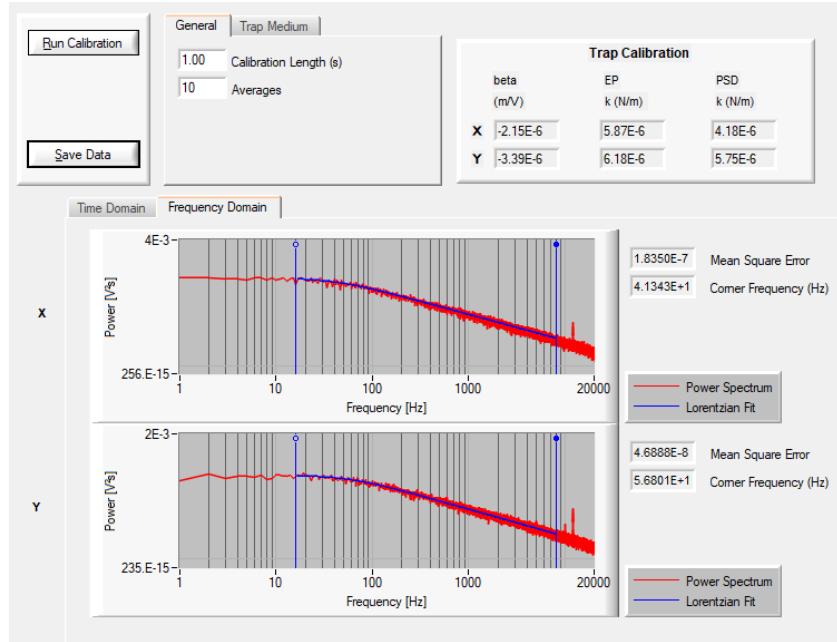


Abbildung 5: Bildschirmaufnahme des Programms zur Messung der Fallensteifigkeit mit Abbildungen im Frequenzraum und den vom Programm berechneten Fallensteifigkeiten für beide Achsen.

An diese Kurve wird folgende Funktion angepasst

$$\text{PSD}(f) = \text{const} \cdot \frac{1}{f^2 + f_0^2},$$

die die Frequenz  $f$  sowie die sogenannte Roll-Off-Frequenz  $f_0$  beinhaltet und die Eigenschaften der spektralen Leistungsdichte REF ZUR THEORIE wiedergibt. Aus diesen in Grafik 6 exemplarisch für eine Laserleistung von 63,4 mA dargestellten Anpassungen, werden die Fallensteifigkeiten über Formel REF ZUR THEORIE ausgerechnet und in Tabelle 1 aufgetragen. Da der erste und letzte Wert deutlich vom zu erwartenden ansteigenden Trend der drei mittleren Werte abweichen, wird nur durch diese drei mittleren Werte eine Ausgleichsgerade zur Kalibrierung der Fallensteifigkeit in Abhängigkeit des Pumpstrom gelegt. Dies ergibt folgende Kalibrierung in Abhängigkeit der Laserleistung

in mW für den Bereich von 93,3 mW bis 153,1 mW:

$$k_x(P) = 1.34 \cdot 10^{-8} \frac{\text{N mW}}{\text{m}} \cdot P - 7.71 \cdot 10^{-7} \frac{\text{N}}{\text{m}} \quad (1)$$

$$k_y(P) = 2.14 \cdot 10^{-8} \frac{\text{N mW}}{\text{m}} \cdot P - 1.46 \cdot 10^{-6} \frac{\text{N}}{\text{m}} \quad (2)$$

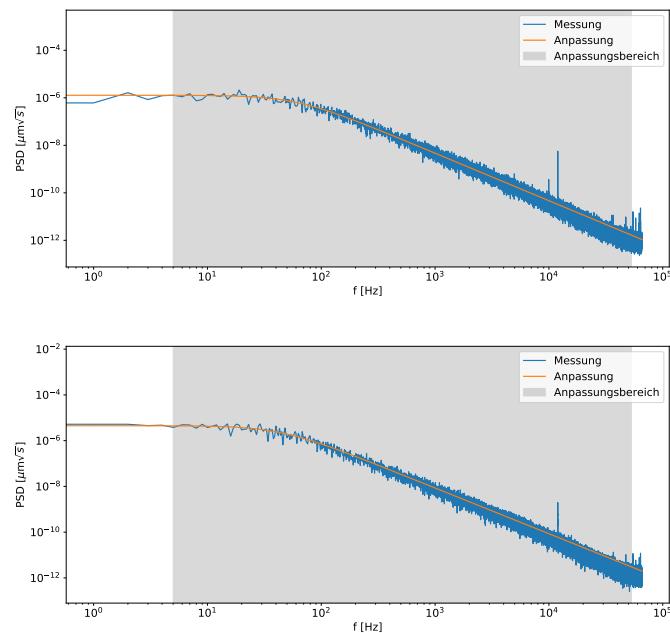


Abbildung 6: Die spektrale Leistungsdichte oben für die x-Achse und unten für die y-Achse gegen die Frequenz aufgetragen sowie eine theoretische Anpassungen, die auf den Werten im markierten Bereich beruht.

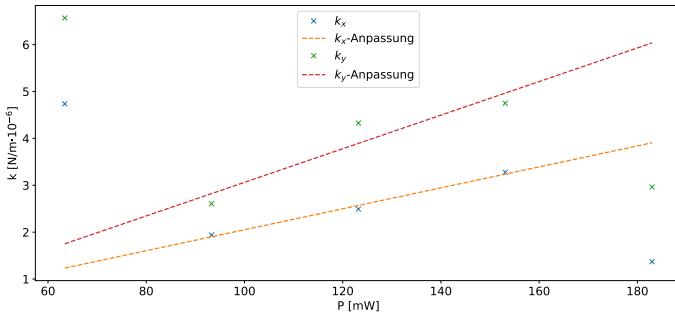


Abbildung 7: Aus den PSD-Anpassungen gewonnene Falleneigkeiten aufgetragen gegen die Laserleistung und eine lineare Anpassung der mittleren drei Werte zur Kalibrierung der Falleneigkeiten.

Zur Überprüfung der Kalibrierung wird aus der Variation der Position des Kugelchens aufgrund der Brown'schen Bewegung, die in den Grafiken 8 für eine Laserleistung von 63,4 mW dargestellt ist, und den zuvor berechneten Falleneigkeiten die Boltzmankonstante zu den in Tabelle 1 aufgelisteten Werten bestimmt.

Tabelle 1: Die Falleneigkeiten in x- und y-Richtung sowie die daraus berechneten Werte für die Boltzmankonstante bei verschiedenen Laserleistung und keiner externen Krafteinwirkung.

| P[mW] | $k_x$ [N/m]          | $k_{B,x}$ [J/K]       | $k_y$ [N/m]          | $k_{B,y}$ [J/K]       |
|-------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| 63,4  | $4,74 \cdot 10^{-6}$ | $1,43 \cdot 10^{-23}$ | $6,57 \cdot 10^{-6}$ | $1,91 \cdot 10^{-23}$ |
| 93,3  | $1,94 \cdot 10^{-6}$ | $7,75 \cdot 10^{-24}$ | $2,61 \cdot 10^{-6}$ | $1,56 \cdot 10^{-23}$ |
| 123,2 | $2,49 \cdot 10^{-6}$ | $7,82 \cdot 10^{-24}$ | $4,33 \cdot 10^{-6}$ | $1,92 \cdot 10^{-23}$ |
| 153,1 | $3,28 \cdot 10^{-6}$ | $8,25 \cdot 10^{-24}$ | $4,75 \cdot 10^{-6}$ | $1,73 \cdot 10^{-23}$ |
| 182,0 | $1,37 \cdot 10^{-6}$ | $6,69 \cdot 10^{-24}$ | $2,96 \cdot 10^{-6}$ | $1,07 \cdot 10^{-23}$ |

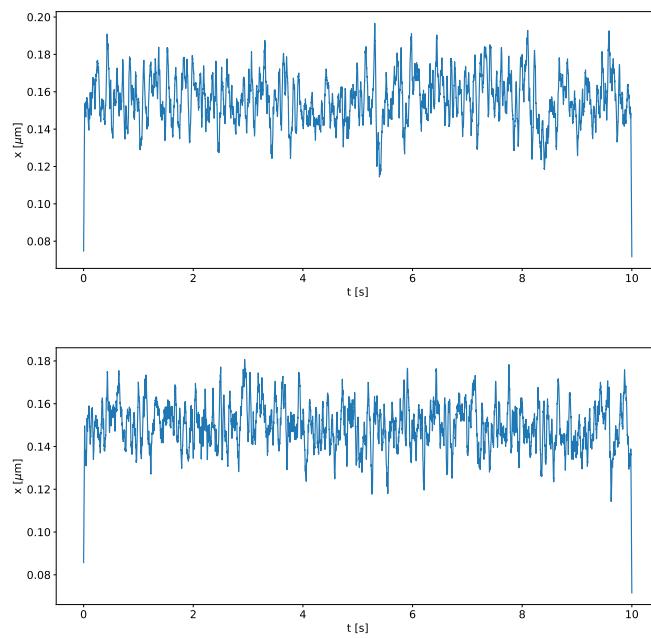


Abbildung 8: Der Ort des Quarzkügelchens aufgetragen gegen die Messzeit.

Bei der Messung mit externer Krafteinwirkung durch Piezoelemente und der Messung mit externer Krafteinwirkung sowie eingesetztem Vortex-Retarder werden die Messungen nicht wie zuvor händisch ausgewertet. Mit der vom Programm gespeicherten Kalibrierung der S-Kurven, kann dieses die Fallensteifigkeiten eigenständig bestimmen und auslesen lassen. Diese Werte sind für die Messung mit externer Krafteinwirkung in x-Richtung in Grafik 9 gegen die Laserleistung aufgetragen. Da kein Zusammenhang zwischen den Werten der Fallensteifigkeiten zu erkennen ist, wird auf eine lineare Anpassung verzichtet. Äquivalent zur Messung ohne externe Krafteinwirkung wird die Boltzmankonstante über das Äquipartitionstheorem berechnet und mit den Fallensteifigkeiten in Tabelle 2 aufgelistet.

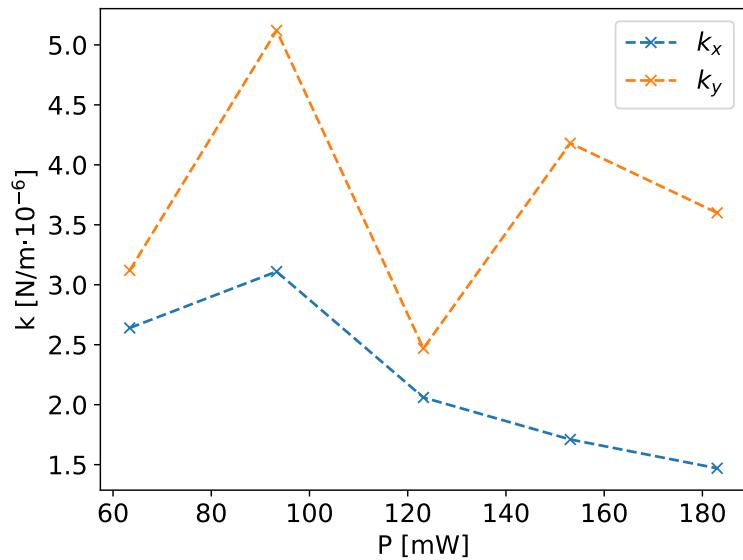


Abbildung 9: Vom Programm aus den PSD bestimmte Falleneigkeiten aufgetragen gegen die Laserleistung bei externer Krafteinwirkung in x-Richtung.

Tabelle 2: Die Falleneigkeiten in x- und y-Richtung sowie die daraus berechneten Werte für die Boltzmannkonstante bei verschiedenen Laserleistung und externe Krafteinwirkung in x-Richtung.

| P[mW] | $k_x$ [N/m]          | $k_{B,x}$ [J/K]       | $k_y$ [N/m]          | $k_{B,y}$ [J/K]       |
|-------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| 63,4  | $2,64 \cdot 10^{-6}$ | $1,42 \cdot 10^{-23}$ | $3,12 \cdot 10^{-6}$ | $1,48 \cdot 10^{-23}$ |
| 93,3  | $3,11 \cdot 10^{-6}$ | $1,13 \cdot 10^{-23}$ | $5,12 \cdot 10^{-6}$ | $1,74 \cdot 10^{-23}$ |
| 123,2 | $2,06 \cdot 10^{-6}$ | $1,04 \cdot 10^{-23}$ | $2,47 \cdot 10^{-6}$ | $1,15 \cdot 10^{-23}$ |
| 153,1 | $1,71 \cdot 10^{-6}$ | $6,65 \cdot 10^{-24}$ | $4,18 \cdot 10^{-6}$ | $1,90 \cdot 10^{-23}$ |
| 182,0 | $1,47 \cdot 10^{-6}$ | $6,98 \cdot 10^{-24}$ | $3,60 \cdot 10^{-6}$ | $1,38 \cdot 10^{-23}$ |

Die Fallensteifigkeiten bei externer Krafteinwirkung in x-Richtung sowie eingesetztem Vortex-Retarder sind in Abbildung 10 gegen die Laserleistung aufgetragen und mitsamt der über sie berechneten Werte der Boltzmannkonstante in Tabelle 3 aufgetragen.

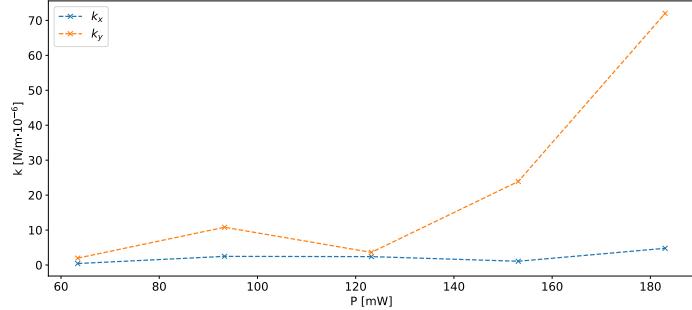


Abbildung 10: Vom Programm berechnete Fallensteifigkeiten aufgetragen gegen die Laserleistung bei eingesetztem Vortex-Retarder und externer Krafteinwirkung in x-Richtung.

Tabelle 3: Die Fallensteifigkeiten in x- und y-Richtung sowie die daraus berechneten Werte für die Boltzmannkonstante bei verschiedenen Laserleistung, eingesetztem Vortex-Retarder und externen Krafteinwirkung in x-Richtung.

| P[mW] | $k_x$ [N/m]          | $k_{B,x}$ [J/K]       | $k_y$ [N/m]          | $k_{B,y}$ [J/K]       |
|-------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| 63,4  | $4,23 \cdot 10^{-7}$ | $3,93 \cdot 10^{-24}$ | $1,97 \cdot 10^{-6}$ | $8,64 \cdot 10^{-25}$ |
| 93,3  | $2,47 \cdot 10^{-6}$ | $8,95 \cdot 10^{-24}$ | $1,08 \cdot 10^{-5}$ | $1,83 \cdot 10^{-24}$ |
| 123,2 | $2,40 \cdot 10^{-6}$ | $8,73 \cdot 10^{-24}$ | $3,61 \cdot 10^{-6}$ | $8,31 \cdot 10^{-26}$ |
| 153,1 | $1,07 \cdot 10^{-6}$ | $5,32 \cdot 10^{-24}$ | $2,39 \cdot 10^{-5}$ | $3,62 \cdot 10^{-25}$ |
| 182,0 | $4,78 \cdot 10^{-6}$ | $1,28 \cdot 10^{-23}$ | $7,20 \cdot 10^{-5}$ | $1,19 \cdot 10^{-24}$ |

## 1.2 Untersuchung des Vesikeltransports in Zwiebeln

Zur Charakterisierung der Vesikel werden zunächst die Größen der vier in Abbildung 11 rot hervorgehobenen Vesikel bestimmt. Dazu wird der Durchmesser der Vesikel über eine Bildbearbeitungssoftware in der Einheit pixel bestimmt und anschließend über die in Abschnitt REF berechnete Größe eines Pixels im Realraum zu den in Tabelle 4 aufgelisteten Werten umgerechnet. Im Mittel ergibt sich so ein Vesikeldurchmesser  $d_{\text{Vesikel}}$  von 0,705  $\mu\text{m}$ .

Tabelle 4: Die Durchmesser der 4 vermessenen Vesikel in der Einheit von Pixeln und im Realraum

| $d_{\text{Vesikel}}$ [Pixel] | $d_{\text{Vesikel}}$ [ $\mu\text{m}$ ] |
|------------------------------|--|
| 21                           | 0.666                                  |
| 19                           | 0.602                                  |
| 21                           | 0.666                                  |
| 28                           | 0.887                                  |

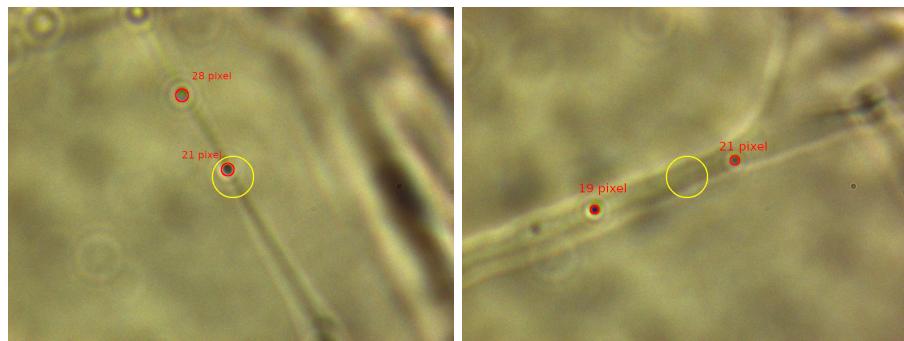


Abbildung 11: Abbildung der vier vermessenden Vesikel, die rot hervorgehoben und deren Größe in Pixeln angegeben sind.

Zur Bestimmung der Geschwindigkeit des Vesikeltransports ist die Intensität der Photodiode gegen die Zeit beim Durchlauf eines Vesikels durch die optische Falle in Abbildung 11 aufgetragen. Daraus geht eine Durchquerungszeit  $\Delta t$  von 1 s hervor, die auf eine Vesikelgeschwindigkeit von

$$v_{\text{Vesikel}} = \frac{2d_{\text{Vesikel}}}{\Delta t} = 1,410 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$$

schließen lässt.

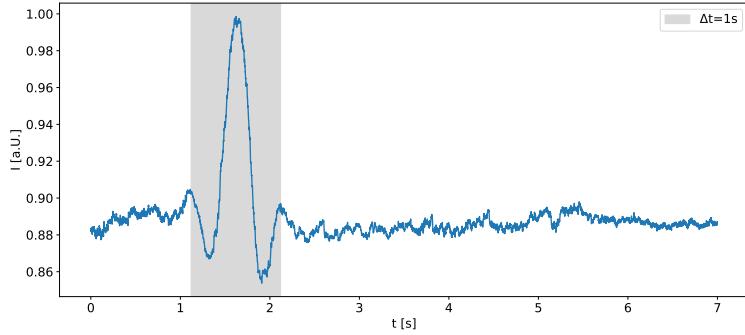


Abbildung 12: Auf die Dauer einer Sekunde bestimmte Intensitätsänderung aufgrund des Durchlaufens eines Vesikels durch die optische Falle.

Aus den restlichen Videoaufnahmen lassen sich weitere Schlüsse über das typische Verhalten des Vesikeltransports ziehen. So laufen entlang einer Actin-Straße alle Vesikel entlang einer Richtung und überholen sich nicht. Wenn ein Vesikel mit Hilfe der optischen Pinzette gegriffen wird, kann es, wie in Abbildung 13 zu sehen, über  $16 \mu\text{m}$  weit von der Actin-Straße entfernt werden, ohne dass sich die Bindung der Myosin-Motoren zwischen der Straße und dem Vesikel lösen. Bei Deaktivieren der optischen Pinzette springt das Vesikel zunächst zurück an seine alte Position und läuft dann weiter in die ursprüngliche Richtung.



Abbildung 13: Ein Vesikel, das über  $16 \mu\text{m}$  von seiner Ausgangsposition auf der Actin-Straße entfernt wurde.

Da die Verbindung der Myosin-Motoren nicht gebrochen werden kann, war es auch nicht möglich Vesikel von einer Straße durch Bereiche ohne Straße auf eine andere zu transferieren. Dies ist in Abbildung 14 zu sehen. Ein Vesikel wird von der Straße am rechten Ende der roten Linie abgefangen und direkt über der blauen Straße platziert. Beim Deaktivieren der optischen Falle geht das Vesikel auf seine Ausgangsposition auf der ehemaligen Straße zurück.

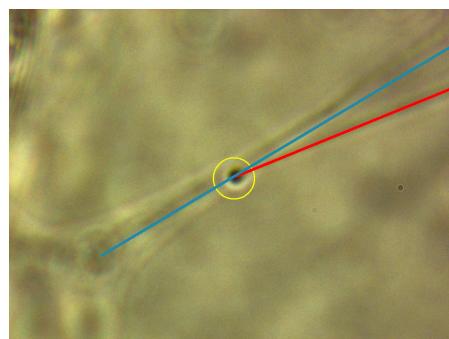


Abbildung 14: Das über der blauen Straße platzierte Vesikel springt bei Deaktivierung der optischen Falle auf seine Ausgangsposition auf der Straße am rechten Ende der roten Linie zurück.

Auch beim Entfernen der Vesikel von der Straße sind diese jedoch noch beweglich, da die Myosin-Motoren weiterhin funktionieren. In der Nähe einer Kreuzung ist so das schnelle verschieben der Myosin-Motoren entlang der Kreuzung durch Verschieben des Vesikels, wie in Abbildung 15 schematisch eingezeichnet, möglich.



Abbildung 15: Bei der gegebenen Vesikelposition können die Myosin-Motoren entlang der Kreuzung auf die andere Straße verfahren.

Durch Platzierung der optischen Pinzette über einer Actin-Straße und sukzessivem Erhöhen der Laserleistung ist ein Stopp des Vesikeltransports bei einer Laserleistung von  $99,28\text{ mW}$  zu beobachten. Dies entspricht einer über die Kalibrierungsmessungen abzuschätzenden Fallensteifigkeit von  $2,54 \cdot 10^{-6}\text{ N/m}$ .

## 2 Diskussion

Die zunächst durchgeföhrten Messungen zur Kalibrierung der Kamera und der Photodiode lieferten vertretbare Ergebnisse, die die Auswertug der Daten der beiden Instrumente ermöglichen. Bei den Konversionsfaktoren wird aufgrund keines klaren Zusammenhangs zu der Laserleistung ein Mittelwert angenommen. Die Kalibrierung der optischen Falle liefert für die unterschiedlichen Messaufbauten abweichende Ergebnisse. Bei der Messung ohne externe Kraft ist der lineare Trend bei drei der fünf Messwerte erkennbar und die daran angepasste Gerade wird zur Kalibrierung der Fallensteifigkeit bei der Untersuchung des Vesikeltransports genutzt. Die aus den Fallensteifigkeiten berechneten Werte für die Boltzmannkonstante weichen maximal um 52% vom Theoriwert von 1,38 J/K ([1]) ab. Die Messungen mit extern wirkender Kraft ergeben Fallensteifigkeiten, die keine Abhängigkeit von der Laserleistung aufweisen. Dies liegt vermutlich an falsch gewählten Anregungsfrequenzen, die nicht die Bedingung ans Verlieren des Quarzkügelchens aus der optischen Falle erfüllten. Auch wenn kein linearer Zusammenhang zu erkennen ist, liefern die Fallensteifigkeiten ähnlich zur vorherigen Messung Werte für die Boltzmannkonstante, die nicht mehr als 52% von dem Literaturwert abweichen. Die letzte Messung bei externer Kraft und eingesetztem Vortex Retarder liefert für die y-Richtung beinahe eine konstante Fallensteifigkeit, die wiederum Werte für die Boltzmannkonstante liefern, die alle beinahe um 100% vom Literaturwert abweichen. Die x-Komponente gibt den erwarteten Anstieg mit der Laserleistung wieder und liefert auch passendere, nicht mehr als 61% Prozent vom Literaturwert abweichende, Werte der Boltzmannkonstante.

Die Untersuchung des Vesikeltransports innerhalb von Zwiebelzellen über die optische Pinzette konnte mit geringem Aufwand beeindruckende Ergebnisse liefern. Die Charakterisierung der Größe und Geschwindigkeit der Vesikel stellte keine Problem dar. Besonders die dynamische Untersuchung des Vesikelverhaltens in Kombination mit Videoaufnahmen bot schnelle und tiefe Einblicke in die Charakteristik des Vesikeltransports.

Im Allgemeinen konnte das Konzept und Funktionsprinzip einer optischen Pinzette im Rahmen des Versuches gut erforscht werden. Während viele Messungen zur Kalibrierung der Falle ungenaue Ergebnisse liefern und nicht als erfolgreich zu bezeichnen sind, hat die phänomenologische Beobachtung des Vesikeltransports vollends funktioniert.

## **Literatur**

- [1] National Institute of Standards {and} Technology. *The NIST Reference on Constants, Units and Uncertainty.*