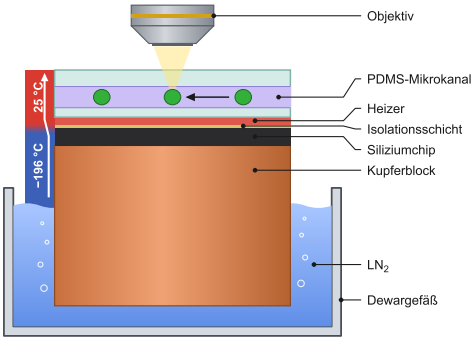
Kryofixierung Metallboden

TECHNISCHE UNIVERSITÄT DARMSTADT

Masterarbeit/Bachelorarbeit

Hintergrund

Die Kryoelektronenmikroskopie ist in der Biologie ein seit Jahrzehnten etabliertes Verfahren, bei dem die Struktur biologischer Proben, wie Zellen oder Proteine, bei Temperaturen von ca. −196 °C untersucht wird. Zur Vorbereitung werden die wässrigen Proben mit Kühlraten von ca. 10^6 K/s eingefroren, was die Bildung von Eiskristallen verhindert, die schädlich für die Strukturen und Bildgebung wären. Konventionelle Einfrierverfahren sind beispielsweise *Plunge Freezing* oder *High Pressure Freezing*. Alle verbreiteten Verfahren haben das Problem, dass die Probe in der Zeit unmittelbar vor dem Einfrieren nicht beobachtet werden kann, was die Untersuchung dynamischer Vorgänge erschwert. Als Lösung dafür wurde an unserem Fachgebiet ein Einfriersystem entwickelt, mit dem die Probe unter laufender Beobachtung durch das Mikroskop eingefroren werden kann.[1]



Das System funktioniert wie folgt: Ein Siliziumchip wird über einen Kupferblock, der in flüssigem Stickstoff hängt, auf −196 °C gekühlt. Auf dem Siliziumchip befindet sich eine mikrometerdicke thermische Isolationsschicht und darauf ein elektrischer Mikroheizer. Durch Einstellen des Stroms kann der Heizer auf eine beliebige Temperatur geregelt werden. Auf dem Heizer liegt ein Mikrofluidikkanal auf, durch den die flüssige Probe zugeführt wird. Da der Kanal transparent ist, lässt sich sein Inhalt dauerhaft von oben durch ein Mikroskop beobachten. Während eines Experiments wird der Heizer auf Raumtemperatur geregelt und das gewünschte Szenario kann unter Beobachtung vorbereitet werden. Dann lässt sich die Probe zu einem beliebigen Zeitpunkt einfrieren, indem einfach der Strom abgeschaltet wird. Da alle Schichtdicken im Aufbau im unteren Mikrometerbereich sind, läuft der Einfriervorgang in wenigen Millisekunden ab.

Aufgabenstellung

Im aktuellen Aufbau wird der Kanal durch einen Boden aus dem Elastomer PDMS abgeschlossen, das aufgrund seiner niedrigen Wärmeleitfähigkeit die möglichen Kühlraten stark begrenzt. Deshalb soll in dieser Arbeit der Boden durch eine Metallfolie ersetzt werden, was etwa doppelt so hohe Kühlraten ermöglichen würde.

Arbeitsumfang

- Erarbeiten eines reproduzierbaren Protokolls zum Abschließen des Kanals mit einer Metallfolie
- Fertigung von Versuchsaufbauten im Reinraum
- Messung der Kühlraten mit Fluoreszenzfarbstoffen

Fachgebiet
Integrierte Mikro-Nano-Systeme

Betreuer
Ion Paciu, M.Sc.

Prüfer
Prof. Thomas P. Burg, PhD.

Art der Arbeit
Masterarbeit/Bachelorarbeit

Beginn
ab sofort

Kontakt
ion.paciu@tu-darmstadt.de

[1] https://doi.org/10.1111/jmi.12747